

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİMDALİ

ÇANAKKALE İLİNDEKİ MEZBAHALARIN KRİTİK KONTROL
NOKTALARINDAN ALINAN NUMUNELERDE KOLİFORM,
ESCHERİCHİA COLİ VE *ESCHERİCHİA COLİ O157:H7* VARLIĞI
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

121531

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hazırlayan : Sine ÖZMEN

Danışman : Prof. Dr. Arsan BİLİŞLİ

ÇANAKKALE - 2002

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Bu çalışma, Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu araştırma, jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Selma GÜVEN
Üye : Prof. Dr. Arsan BİLİŞLİ
Üye : Doç. Dr. Harun AKSU

Kod No: 83

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Ali ÖZPINAR
Fen Bilimleri Enstitüsü
Müdürü

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	III
ÇİZELGELER.....	IV
ŞEKİLLER.....	V
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Koliform, E.coli ve E.coli O157:H7'nin Tanımı ve Özellikleri.....	3
2.1.1. E.coli O157:H7'nin Biyokimyasal ve Antijenik Özellikleri.....	5
2.1.2. E.coli O157:H7'nin Epidemiyolojisi.....	6
2.1.3. E.coli O157:H7 Enfeksiyonlarında Bulaşma Şekilleri.....	9
2.1.4. E.coli O157:H7'nin Patojenitesi.....	12
2.1.5. E.coli O157:H7'nin Neden Olduğu Hastalıklar.....	13
2.1.6. E.coli O157:H7'nin Canlılığı Üzerine Etki Eden Etmenler.....	14
2.2. Mezbaha Hijyeni ve HACCP Uygulamaları.....	18
2.3. Örnekleme, İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri.....	21
2.3.1. Karkaslardan E.coli Analizinde Örnekleme Yöntemi.....	21
2.3.2. Koliform ve E.coli'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	23
2.3.2.1. En Muhtemel Sayı Yöntemi (EMS).....	23
2.3.2.2. Dökme Plak Yöntemi.....	23
2.3.2.3. Membran Filtrasyon Tekniği.....	24
2.3.3. E.coli O157:H7'nin İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri.....	24

2.3.3.1. Klasik yöntemler.....	25
2.3.3.2. Gelişmiş yöntemler.....	27
3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	30
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	39
4.1. Örneklerin Toplanması.....	39
4.2. Kullanılan Malzeme ve Ekipmanlar.....	39
4.2.1. Besiyerleri.....	39
4.2.2. Diğer malzeme ve ekipmanlar.....	41
4.3. İzolasyon ve İdentifikasyon.....	41
4.3.1. Koliform ve <i>E.coli</i> Analizi.....	41
4.3.2. <i>E.coli</i> O157:H7'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	42
4.3.3. İstatistiksel Analiz.....	43
5. BULGULAR.....	44
6. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	52
7. ÖZET.....	58
8. SUMMARY.....	60
9. KAYNAKLAR.....	62
TEŞEKKÜR.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	76

ÖZ

Bu çalışmada, Çanakkale ilindeki merkez, Ezine ve Biga mezbahalarından Nisan-Temmuz 2002 ayları arasında koliform, *E.coli* analizi için karkas (but, karın ve göğüs bölgelerinden), deri ve çevresel örnekler (işçi elleri, elbiseleri, kullanılan bıçak, balta, su), *E.coli O157:H7* varlığının araştırılması için bunlara ilaveten rektumdan alınan örnekler incelenmiştir.

E.coli O157:H7 analizi için incelenen toplam 299 örnekten *E.coli O157:H7* izole edilemezken, sığırlardan ve koyunlardan alınan toplam 198 karkas ve deri örneklerinin 97'sinde (%48.98) koliform grubu mikroorganizma, 83'ünde (%41.91) *E.coli* tespit edilmiştir. Sığır karkaslarından alınan örneklerdeki *E.coli* sayılarının 5 (% 2.52) örnekte tolere edilebilir sınırı aştığı görülmüştür. Ayrıca işçi elleri, elbiseleri, bıçaklar, baltalar ve sulardan oluşan toplam 49 çevresel örneğin 23'ünden (%46.93) koliform grubu mikroorganizma, 14'ünden (%28.57) ise *E.coli* izole edilmiştir.

Araştırma sonunda, Çanakkale ilindeki mezbahalarda yapılan kesimlerde hijyen yönüyle yetersizlik olduğu tespit edilmiş, kesim öncesinde, kesim sırasında ve sonrasında deriden karkasa mikrobiyal kontaminasyonun önlenmesini, çalışanların, kullanılan alet ve ekipmanların hijyen düzeylerinin artırılmasını sağlayacak tedbirlerin alınmasında iyi üretim uygulamaları (GMP) ve HACCP prensiplerinin benimsenmesinin gerekliliği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Mezbaha, hijyen, *E.coli O157:H7*, *E.coli*, koliform.

ABSTRACT

The present study was carried out in three different abattoirs; Merkez, Ezine and Biga, between April 2002-July 2002 in Çanakkale. In this study, presence of *E.coli* in carcasses (rump, flank, brisket areas) in hides and in the working environment of the abattoirs (hands, clothes, knives, hatchets, waters) was investigated. In addition, the presence of *E.coli O157:H7* in samples obtained from rectum was determined.

E.coli O157:H7 was not found in 299 samples collected for this study. However, coliform group of microorganisms in 97 (%48.98), and *E.coli* in 83 (%41.91) carcass and hide samples were isolated from total of 198 samples. *E.coli* counts of cattle carcass samples in 5 samples were determined to exceed the tolerable limit. Moreover, coliform group of microorganisms in 23 (%46.93) samples and *E.coli* in 14 (%28.57) samples were isolated from total of 49 samples obtained from working environment specifically from hands, cloths, knives, hatchets of workers and from water used in the working area.

In conclusion, it was determined that slaughtering process carried out in abattoirs investigated during the course of this study in Çanakkale do not meet the hygienic requirements. Proper surveillance and preventive measurements, such as Good Manufacturing Practice (GMP) and HACCP, should be undertaken to control contamination from hide to carcass and to obtain hygienic requirements of workers and equipments before, during and at the end of slaughtering.

Key Words: Abattoir, hygiene, *E.coli O157:H7*, *E.coli*, coliform

SİMGELER VE KISALTMALAR

cm ² :	Santimetrekare
g:	Gram
kGy:	KiloGray
kDa:	Kilo Dalton
kob:	Koloni oluşturan birim
l:	Litre
log:	Logaritma
max:	Maksimum
mDa:	Mega Dalton
mg:	Miligram
min:	Minimum
ml:	Mililitre
nm:	Nanometre
P:	Probability
ppm:	Part per million
sn:	Saniye

ÇİZELGELER

Çizelge No	Çizelge Adı	Sayfa No
Çizelge 5.1.	Sığır karkas ve deri örneklerinin koliform mikroorganizma sayıları.....	46
Çizelge 5.2.	Sığır karkas ve deri örneklerinde <i>E.coli</i> sayıları.....	47
Çizelge 5.3.	Koyun karkas örneklerinin koliform mikroorganizma sayıları.....	48
Çizelge 5.4.	Koyun karkas örneklerinin <i>E.coli</i> sayıları.....	48
Çizelge 5.5.	Çevresel örneklerin koliform mikroorganizma sayıları.....	49
Çizelge 5.6.	Çevresel örneklerdeki <i>E.coli</i> sayıları.....	49
Çizelge 5.7.	<i>E.coli</i> ve koliform mikroorganizma yönüyle incelenen koyun ve sığır karkas ve sığır deri örneklerinde saptanan pozitif örnek sayıları ve yüzdeleri.....	50
Çizelge 5.8.	<i>E.coli</i> ve koliform mikroorganizma yönüyle incelenen çevresel örneklerde pozitif örnek sayıları ve yüzdeleri.....	50

ŞEKİLLER

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 2.1.	<i>E.coli</i> O157:H7'nin sığırdan insanlara bulaşmasını gösteren bir model.....	11
Şekil 2.2.	Sığır karkaslarından <i>E.coli</i> analizinde örnekleme noktaları.....	22
Şekil 5.1.	Sığır karkas ve deri örneklerinde ortalama koliform mikroorganizma ve <i>E.coli</i> sayıları.....	51
Şekil 5.2.	Koyun karkaslarında ortalama koliform mikroorganizma ve <i>E.coli</i> sayıları.....	51

1.GİRİŞ

Et, yüksek biyolojik değeri, doyuruculuğu ve içerdđi aroma maddeleri açısından insan beslenmesinde ön sıralarda yer alan bir besin maddesidir (İnal, 1995). İnsan metabolizması için gerekli olan esansiyel aminoasitlerin (fenilalanin, izölöysin, löysin, lizin, metiyonin, treonin, triptofan, valin, arjinin, histidin) tümünü yapısında bulundurmasının yanında, lipidleri, mineral maddeleri (Fe, Zn, Ca, Na, vb.) ve vitaminleri (Vit. A, ve Vit. B kompleksi) de önemli oranlarda içermektedir (Uğur ve ark, 1998).

Beslenme açısından çok değerli olan bu gıda maddesi ve ürünleri, sağlıklı hayvanlardan elde edildikleri ve uygun koşullarda işlendikleri taktirde mikrobiyolojik olarak güvenilir niteliktedir. Yetiştirme, kesim ve işleme sırasında gerekli önlemlerin alınmadığı durumlarda mikroorganizmalar ürünlerde kalite kayıplarına ve tüketicilerde önemli sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Anar, 2000).

Et ortalama olarak, %75 su, %19 protein, %2.5 yağ, %0.2 karbonhidrat içeriğinin yanında vitamin ve mineral madde içermesi yüzünden mikroorganizmaların üremesi için iyi bir besi ortamı durumundadır. Etin bu organik yapısının yanında su aktivitesi değerin de (a_w) 0.985-0.995 arasında olması mikroorganizmaların üremesi açısından ideal bir durumdur. (Uğur ve ark, 1997).

Mikroorganizmaların ete kontaminasyonu, kasaplık hayvan canlı iken veya hayvanın kesimi sırasında veya sonrasında gerçekleşmektedir. Et yüzeyinde normalde bulunan başlangıç mikroorganizma yükünün, kesim sırasında teknoloji ve hijyen kurallarına uyularak minimum düzeyde tutulması gerekmektedir. Aksi halde bu mikroorganizmalar, çok çabuk üreyerek et kalitesinin düşmesine ve bozulmaya neden olmaktadır (Uğur ve ark, 1997).

Mezbaha ve et işletmelerinde kesim, çalışanlar ve kullanılan alet ve ekipmanların hijyen kalitesinin belirlenmesinde fekal kirliliğın göstergesi olarak koliform grubu mikroorganizmaların ve özellikle *E.coli*'nin varlığı araştırılmaktadır.

Son yıllarda dünya çapında ciddi salgınlar oluşturan ve ölüme kadar varabilen rahatsızlıklara yol açan Enterohemorrajik *E.coli* (*E.coli* O157:H7)'nin başlıca rezervuarı olarak sığırlar gösterilmektedir. Etken, sığırlarda herhangi bir hastalık belirtisi göstermediğinden etkeni taşıyan sığırlar tespit edilememekte ve bu da sığır kaynaklı ürünlerin üretim ve tüketimi sırasında insanlar için risk oluşturmaktadır. Etken sağım sırasında süte, kesim sırasında ise dışkıdan karkasa bulaşarak sığır kaynaklı hayvansal ürünleri kontamine edebilmektedir.

Bu çalışma, Çanakkale ilindeki mezbahalarda karkası kontamine etme riski taşıyan çeşitli noktalardan alınan numunelerde mezbaha hijyeninin göstergesi olarak koliform ve *E.coli* sayısının belirlenmesinin yanında, sığır kaynaklı ürünlerin tüketimiyle insanlar için risk oluşturan *E.coli* O157:H7'nin aranmasını kapsamaktadır. Türkiye'de mezbaha hijyenine yönelik çeşitli çalışmaların bulunmasına karşılık mezbahalarda *E.coli* O157:H7 varlığının araştırılmasına yönelik çalışmaların sınırlı oluşu dikkate alınmıştır. Çanakkale ilindeki mezbahalarda daha önce bu çeşit bir çalışmanın yapılmayışı da göz önünde tutularak bu araştırmanın et ve et ürünlerinin güvenli üretim ve tüketiminin sağlanmasına yönelik gerekli hijyen tedbirlerinin alınmasına ışık tutacağı düşünülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Koliform, *E.coli* ve *E.coli* O157:H7'nin Tanımı ve Özellikleri

Koliformlar, fekal koliformalar, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* gibi mikroorganizmalar besin maddelerinde hijyen hatalarını ve sağlık açısından riskleri gösteren "indikatör mikroorganizmalar" olarak adlandırılmaktadır. Bu mikroorganizmalar, fekal kontaminasyonu, gıdalardaki patojen ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların varlığını, işleme, üretim ve muhafaza sırasında gıdaların hijyenik özelliklerini belirlemek için kullanılmaktadır (Uğur ve ark, 1996).

İnsan ve hayvanların sindirim kanalında doğal olarak bulunan, 35°C'de 48 saat içinde laktozu fermente ederek gaz oluşturan bütün aerobik, anaerobik, gram negatif, spor oluşturmeyen mikroorganizmalar koliform olarak, 44.5°C'de laktozu fermente eden gram negatif basiller ise fekal koliform olarak adlandırılmaktadır. Fekal koliformlar, *E.coli*'den ibaret olmasına rağmen *Enterobacter* ve *Klebsiella* suşları da aynı ısıda laktoz brothda gaz üretebilmektedir. *E.coli* genellikle intestinal kanal ve dışkıda bulunduğu için iyi bir indikatördür (Uğur ve ark. 1996).

E.coli türleri, 1950'lerin sonlarına kadar insan ve hayvanların bağırsak florasında normal olarak bulunan ve patojenik olmayan mikroorganizma olarak tanınmıştır. Bununla birlikte bazı serotipler hastalık oluşturabilmekte ve *E.coli* potansiyel patojenik organizma olarak dikkate alınabilmektedir. Patojenik *E.coli* serotipleri farklı diyare hastalıkları, meningitis, sepsis, arterosklerosis, hemolitik üremik sendrom ve immunolojik hastalıklara neden olabilmektedir (Olsvic ve ark., 1991).

Bu serotipler virulens özellikleri, patojenite mekanizması, klinik sendromlar ve O:H serotiplerine göre başlıca;

- Enteropatojenik (EPEC)
- Enterotoksijenik (ETEC)
- Enteroinvaziv (EIEC)
- Enterohemorajik (EHEC)

- Diffuz – Adhering (DAEC)
- Enteroagregativ (EAaggEC) olarak 6 ana grup altında toplanmıştır.

Bu gruplara ilaveten fakültatif enteropatojenik (FEEC), verotoksin oluşturanlar (VTEC), shiga benzeri toksin oluşturanlar (Shiga like toksin; SLTEC), diyare oluşturanlar (DEC) gibi grupların başka gruplar ile de tarif edilebilmesi diyareye neden olan *E.coli*'lerin enfeksiyon veya intoksikasyon etmeni olarak gruplandırılması bu konudaki terminolojiyi zorlamaktadır (Halkman ve ark., 2001).

Enteropatojenik *E.coli*:

Bebeklerde ishallere neden olan spesifik *E.coli* serotiplerini içermektedir. Etken, et ve su gibi gıdalara; gıda alanında çalışan personel ve kanalizasyon suları ile bulaşmaktadır. Bakteri, bağırsak mukozasına yapışarak kolonize olmakta ve başka bir invazyon oluşturmaksızın mikrovillileri tahrip etmekte ve diyareye neden olmaktadır (Uğur ve ark., 1996).

Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC):

Turist ishalinin en yaygın sebebi olan ETEC, iyi hijyenik standartlara sahip ülkelerden sıcak iklimli ve düşük hijyen standartlarına sahip ülkelere giden kişilerde sıklıkla görülmektedir. Başlıca rezervuarı insan, gıda kontaminasyon kaynakları enfekte kişiler ve atık sulardır. Etken; peynir, mayonez, hazır gıdalar ve suda daha çok bulunmakta, sindirim yoluyla alındıktan sonra ince barsak mukozasına yerleşmekte ve kolonize olmaktadır. Burada mukozal hücrelere yapışmakta ve ısıya dayanıklı (ST) ve ısıya dayanıksız (LT) iki enterotoksin üretmektedir (Uğur ve ark., 1996).

Enteroinvaziv *E.coli* (EIEC):

Shigella'lar tarafından oluşturulan dizanteriye benzer bir hastalığa (ateş, kramplar, kan ve mukus içeren diyare) neden olan EIEC'nin başlıca rezervuarı insandır ve kontaminasyon kaynaklarını hastalıklı kişiler ve kontamine sular oluşturmaktadır. Peynir, patates salatası ve su etkenin en çok bulunduğu gıdalar olarak gösterilmektedir. Kolonlarda epitelyal invazyon ve intrasellüler çoğalma, mukozanın yangısına ve ülserleşmesine neden olmaktadır (Uğur ve ark., 1996).

Enterohemorajik *E. coli* (*E. coli* O157:H7):

Hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura gibi hastalıklara neden olan *E. coli* O157:H7, diğer *E. coli* suşlarına göre daha önemli bir patojen olarak tanınmaktadır. Etkenin başlıca rezervuarı sığırlar, özellikle genç olanlardır. Etken, özellikle az pişmiş sığır kıyması ve çiğ süt tüketimi ile insanlara geçebilmektedir (Doyle, 1991).

Enterogregativ *E. coli* (EAggEC):

Daha çok tropik ülkelerde, çocuklarda diyareye neden olan Enterogregativ *E. coli*, hücre kültürlerinde hücreler üzerine kümelenme özelliği göstermektedir. Agregasyonun, 60 mDa virulens plasmidi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. EAggEC'lerin %50'sinde virulens faktör olarak ısıya dirençli enterotoksin varlığı belirtilmiştir (Tunail, 1999).

Difüz-Adherent *E. coli* (DAEC):

Çocuklarda, süreklilik gösteren diyareye neden olan etken, hücreye adhezyon yolu ile yapışarak difüze olmaktadır. Etkenin yapısında iki ayrı adhezin geni ve intimin varlığı saptanmıştır (Tunail, 1999).

2.1.1. *E. coli* O157:H7'nin Biyokimyasal ve Antijenik Özellikleri

E. coli O157:H7 serotipi, diğer *E. coli*'lerden, 44.5°C ve üzerinde gelişmemesi, sorbitolü fermente edememesi, β- glukuronidaz enzimine sahip olmaması, eae genine sahip olması ve enterohemolisin üretimi gibi özellikler dolayısıyla ayrılmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

Fekal koliformların ve tipik *E. coli* suşlarının belirlenmesi için uygulanan rutin yöntemlerde 44-45.5°C'lik inkübasyon sıcaklığı kullanılmaktadır. Ancak *E. coli* O157:H7 serotipi bu sıcaklıklarda çok zayıf gelişebilmekte ve ya hiç gelişmemektedir. Zayıf geliştiği durumlarda da klasik inkübasyon sürelerini aşan sürelere ihtiyaç duyulmaktadır (Doyle, 1984).

E.coli suşlarının çoğu sorbitolü fermente edebilme yeteneğindedir. *E.coli* O157:H7 suşları 48 saatlik inkübasyon süresinde sorbitolü fermente edememektedir. *E.coli*'lerde tipik olarak bulunan ve *uidA* geni tarafından kodlanan β -glucuronidase enzim aktivitesine bağlı florojenik MUG belirteci, *E.coli* O157:H7'de bu genin varlığının belirtilmiş olmasının yanında *uidA* genindeki baz mutasyonlarının varlığından dolayı negatiftir. Ayrıca *E.coli* O157:H7 serotipinde *E.coli* tip 1'in belirlenmesine yönelik temel identifikasyon testlerinden H₂S oluşturma, Voges-Proskauer testleri negatif, laktoz ve glikozdan gaz oluşturma, indol, metil red, hareket ve lisin dekarboksilaz testleri ise pozitifdir (Halkman ve ark, 2001).

Yeni bir tip hemolizin olarak kabul edilen enterohemolizinin, çoğu verotoksik *E.coli* O157:H7 veya O157:H- izolatu tarafından üretilebildiği belirlenmiştir. Bu özelliğin, verotoksin üreten *E.coli* suşlarında yaygınken diğer *E.coli* suşlarında ise varolmadığı belirtilmektedir (Özbaş ve Aytac, 1995).

E.coli suşları arasında serolojik bir bağlantı olduğu ilk kez 1921'de Dodgeon ve arkadaşları tarafından belirtilmiş, sonra 1937'de Lowel *E.coli*'nin kapsül ve somatik olmak üzere 2 çeşit antijeni olduğunu ileri sürmüştü, 1943'te ise Kaufmann flagella antijenini de göstermiştir. En son çalışmalara göre bugün 174 O, 56 H ve 80 K antijeni olduğu saptanmıştır. *E.coli*'nin somatik O antijenleri ile *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter* ve *Providencia* cinsi bakteriler arasında önemli ölçüde çapraz reaksiyonlar bulunmaktadır. Hücre zarında, kılıfında yada kapsülde bulunan kapsüller K antijenleri termostabil özellik göstermektedir. Monofazik olan ısıya duyarlı H antijenleri ise sadece hareketli türlerde bulunmaktadır. Flagellar H antijenleri birbirleri ve diğer bakterilerin H antijenleri ile çapraz reaksiyon vermemektedir. Yapılan antijenik çalışmalarda *E.coli* O157 antiserumu ile *E. hermannii* ve *C. freundii* suşlarının aglutinasyon verdikleri bildirilmektedir (Halkman ve ark., 2001).

2.1.2. *E.coli* O157:H7'nin Epidemiyolojisi

Somatik O ve flagellar H antijenleri ile adlandırılan *E.coli* O157:H7, insanlar için patojen bir etken olarak ilk kez 1982'de birbirini izleyen iki hemorajik kolit salgını ile fark edilmiştir. İlk salgın 26 vaka ile Oregon'da, ikinci salgın ise 21 vaka ile

Michigan'da görülmüştür. Etkenin aynı fast food restoran zincirindeki yetersiz pişmiş hamburgerlerden, hastalardan ve sığır kıymasından yapılan dondurulmuş hamburger köftesinden izole edilmesinden kısa bir süre sonra hemolitik üremik sendromlu çocukların dışkı örneklerinin Vero (Afrika yeşil maymun böbreği) doku kültür hücrelerine toksik etki gösteren madde içerdiği belirlenmiş ve bu verositotoksinin, enfeksiyona neden olan *E.coli O157:H7* serotipi tarafından üretildiği tespit edilmiştir. Bunları takiben benzer vakalar ABD, Kanada, İngiltere, Meksika, Çin, Arjantin, Belçika gibi ülkelerde görülmüştür (Doyle, 1984, 1991).

E.coli O157:H7'nin başlıca rezervuarının sığırlar olduğu, doğal ve deneysel olarak enfekte edilen sığırların etkeni düşük düzeylerde uzun süreler dışkıyla atabildikleri ifade edilmektedir. Etkenin, yetersiz pişirilmiş hamburger ve çiğ süt gibi sığır kaynaklı ürünlerin tüketimi ile insanlara geçtiği ve sağlıklı sığırların yaklaşık %1'inin dışkılarından etkenin izole edildiği belirtilmektedir (Dean-Nystrom ve ark., 1997).

Sığır karkaslarının kesim aşamaları boyunca çeşitli şekillerde deri, kıl ve iç organların çıkarılması sırasında kontamine olduğu belirtilmektedir. En önemli özelliği sığır sindirim sisteminde üreyebilmesi olan Enterohemorajik *E.coli*'nin en korkulan kontaminantlardan biri olduğu ve dışkıdan direkt veya indirekt kontaminasyonun patojenin yayılmasında önemli bir etken olduğu ifade edilmektedir. Kesim sırasında kolaylıkla ve sağlamca karkas yüzeyine yerleşen bakteri, elde edilen etin hijyen kalitesinde önemli bir rol oynamaktadır. Ekipman, kontaminasyonda ilk basamaktır ve eğer et kondüsyonu müsait ise sonraki yüzey kolonizasyonlarına sebep olmaktadır. Fekal içerikle kirlenmiş bıçak ve kontamine artık sahaları kontaminasyonun yayılmasında önemli bir etkidir. Buna ilaveten çalışanların elleri ile de kontaminasyon riski artabilmektedir (Delazarı ve ark., 1998).

Üçüncü dünya ülkelerinde turistleri ve çocukları etkileyen farklı diareye neden olan *E.coli* suşlarının ana kaynağını su oluşturuyor iken, peynirler Avrupa ve

Amerika'da Enterotoksijenik ve Enteroinvaziv *E.coli* salgılarına kaynak teşkil etmektedir (Olsvic ve ark. 1991).

Bir çalışmada, 164 sığır etinin %3.7'sinden, 264 domuz eti ve 263 tavuk etinin %1.5'inden ve 205 kuzu etinin %2.0'sinden EHEC izole edildiği bildirilmiştir. EHEC'in izole edildiği diğer gıdalar arasında ise çiğ domuz eti, çiğ dana eti, dana rostosu, tavuk butu, çeşitli kuzu etleri, geyik eti ve çiğ süt bulunduğu belirtilmektedir (Gönül ve Karapınar, 1994).

Kurutulmuş fermente sucuk üretiminde de düşük pH ve su aktivitesi değerlerinde canlılığını koruyabilen ve 10-100 bakteri kadar az miktarları bile hastalık meydana getirebilen *E.coli O157:H7* suşunun ciddi sorun oluşturduğu belirtilmektedir (Incze, 1998).

Coşansu ve Ayhan (2000), Türkiye'de *E.coli O157:H7*'nin gıdalarda bulunma sıklığı ile ilgili olarak az sayıda yapılmış çalışmalardan Gönül (1997) tarafından yapılan bir araştırmada 20 çiğ süt ve 30 peynir örneğinde *E.coli O157:H7* suşunun arandığını ve sonuçta teneke tulum peyniri örneklerinden sadece birinden *E.coli O157* izole edildiğini, Kaymaz ve ark. (1998), tarafından yapılan bir çalışmada ise 100'er adet hamburger ve İnegöl köftesi örneğinde *E.coli O157:H7* serotipine rastlanmadığını, ancak 2 hamburger ve 5 İnegöl köftesi örneğinde *E.coli O157:H* serotipinin belirlendiğini ve bu 5 izolatin tümünün verotoksijenik olduğunu belirtmişlerdir.

Dondurulmuş hamburger ve köftelerde *E.coli O157:H7* varlığına yönelik ülkemizde yapılan bir başka çalışmada ise 3'ü dondurulmuş, 1'i dondurulmamış hamburger örneklerinden etken izole edilmiştir (Cebiroğlu, 1998).

Türkiye'de yapılan bir başka çalışmada da, 255 sığır kıyması, 101 sucuk ve 50 çiğ hamburger örneği *E.coli O157:H7* varlığı yönüyle analiz edilmiş ve sığır kıyması, çiğ hamburger ve sucuk örneklerinden birer tanesinden olmak üzere toplam 3 adet örnekten *E.coli O157* izole edilmiştir. Ancak hiç birinde H7 serotipi belirlenmemiştir (Noveir ve ark., 2000).

Sığır dışkısı, artığı ve mezbaha atıkları gibi organik artıkların toprak yoluyla yok edilmesi, *E.coli O157* serotipinin birinci dereceden rezervuarının sığırlar olması nedeniyle ciddi bulaşmalara neden olmaktadır. *E.coli O157*, toprakta 4 aydan daha fazla bir süre canlı kalabilmekte ve çevresel baskılara oldukça dayanıklı bir patojen olarak nitelendirilmektedir. *E.coli O157*'den kaynaklanan gıda enfeksiyonlarının çoğunun kontamine et ve süt ürünlerinin tüketimi ile ilişkisinin yanında kontamine toprak, meyve, sebze ve içme suyu tüketimi ile ilişkili enfeksiyonların olduğu bildirilmektedir (Jones, 1999).

E.coli O157:H7'nin pastörize edilmemiş elma suyu ve elma şarabı tüketimi ile ilgili salgınlara yol açtığı (Besser ve ark., 1993) ayrıca etkenin kaba yonca filizi (Castro-Rosas ve Escartin, 2000) ve turp filizi (Hara-Kudo ve ark., 1999) gibi bitkilerden de izole edildiği belirtilmektedir.

2.1.3. *E.coli O157:H7* Enfeksiyonlarında Bulaşma Şekilleri

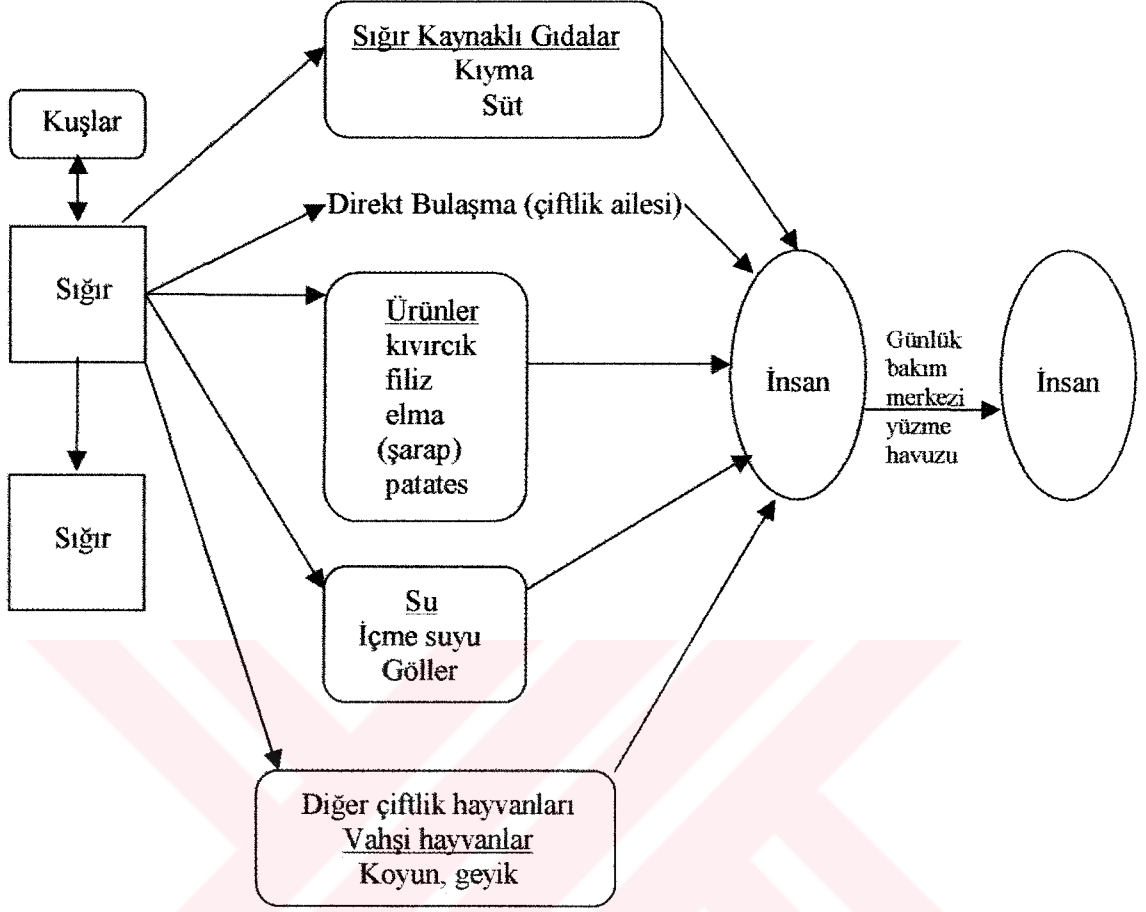
E.coli O157:H7'yi de içeren *Shiga*-toksin üreten *E.coli*'lerden kaynaklanan enfeksiyonlarda bulaşma; kontamine gıda, kontamine içme veya havuz suyu ile, insandan insana bulaşma ile ve hayvanlara direkt veya indirekt yolla temas ile olmaktadır (Willshaw ve ark., 2001).

Süt sığırlarının, özellikle genç hayvanları barındıran sürülerin *E.coli O157:H7*'nin rezervuarı olduğu bildirilmiştir (Doyle, 1991). Ergin sığırlar ve süttten kesilen buzağlar genelde semptom göstermeden dışkılarıyla bakterinin çevreye bulaşmasına neden olmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, Şekil 2.1.'de gösterildiği gibi mahsul yetiştirmede gübre olarak sığır dışkısı kullanımı ile, ayrıca tarlaya veya su gereçlerine yakın yerlerde sığırların bulundurulması ile bulaşmanın gerçekleşebileceğini belirtmektedir (Gansheroff ve O'Brien, 2000).

Kesim ve işleme sırasında etin sığır dışkısı ile teması sonucu bu patojenin gıda zincirine girebildiği, dışkı materyalinin, et ürünlerinde olduğu kadar süt ürünleri için de bir patojen kaynağı olduğu belirtilmektedir. Çiğ veya az pişirilmiş sığır orijinli gıdalar, özellikle hamburgerler ve yetersiz pastörizasyona tabi tutulmuş sütler *E.coli*

O157:H7'nin bulaşmasında ana kaynakları oluşturmaktadır. Yapılan bir çalışmada perakende olarak satışa sunulmuş domuz etinde %18, koyun etinde %48, tavuk etinde %12, hindi etinde %7, balık etinde %10 ve kabuklu deniz ürünlerinde ise %5 oranlarında shiga toksin üreten *E.coli* bulunmuş, ancak bunların çoğunun insan enfeksiyonlarında araç olarak belirlenmediği belirtilmiştir. Bu durum *Shiga* toksin üreten *E.coli*'nin bulaşmasındaki araçların tam olarak anlaşılamadığını, alternatif taşıyıcıların da dikkate alınması gerektiğini ifade etmektedir. *E.coli O157:H7*'nin sebep olduğu çeşitli salgınlar, kontamine içme suyu, göl veya havuzda su tüketimi ile meydana gelmiştir. *E.coli O157:H7*, içme ve havuz suyunda özellikle düşük sıcaklıklarda haftalarca canlılığını koruyabilmekte, yüzme havuzları ile ilişkili salgınlar, yüzücüler tarafından kontamine suyun yutulması ile meydana gelmektedir. Etkenin enfeksiyon dozunun düşük olmasından dolayı, çok az miktarlarda bile su yutulmasıyla hastalık oluşturabileceği belirtilmektedir (Karch ve ark, 1999).

E.coli O157:H7'nin düşük enfeksiyon dozundan dolayı insandan insana dışkı-ağız bulaşmasının yetersiz hijyen şartlarında kolaylıkla meydana gelebileceği, bulaşmanın bu şeklinin aile içinde ve hastanelerde bu enfeksiyonun yayılımından sorumlu tutulabileceği belirtilmektedir. Ayrıca, *E.coli O157:H7*'nin sebep olduğu sporadik enfeksiyonlar ve salgınlarda, çiftliklerin gezilmesi sırasında hayvanla direkt temasın, bulaşmada rol oynadığı ifade edilmektedir (Karch ve ark, 1999).



Şekil 2.1. *E.coli O157:H7*'nin sığırdan insanlara bulaşmasını gösteren bir model (Gansheroff ve O'Brien, 2000).

2.1.4. *E. coli* O157:H7'nin Patogenitesi

E. coli O157:H7'nin patojenite mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte önemli virulans faktörleri tanımlanmıştır (Özbaş ve Aytaç, 1995).

E. coli O157:H7 tarafından üretilen ve doku kültüründe geliştirildiklerinde Vero ve HeLa hücrelerine sitotoksik etkili olan iki tip verotoksin (VT-1 ve VT-2) bulunmaktadır. Bu toksinler hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendrom ile ilişkili olarak kolona ve böbrek glomeruluslarına spesifiktirler. İmmunolojik ve yapısal olarak *S. dysenteria*'nın oluşturduğu *shiga* toksininden ayırt edilemediği için bu toksinler *shiga*'ya benzer anlamında *Shiga* -like toksinler (SLT-1=VT-1; SLT-2=VT-2) olarak da adlandırılmaktadır (Buchanan ve Doyle, 1997).

VT-1, bir A alt ünitesi (32 kDa) ve beş B (7.7 kDa) alt ünitelerinden oluşan 70 mDa'luk bir protein yapısında intrasellüler bir toksindir. B alt üniteleri, ökaryotik hücrelerin yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak doku spesifitesini sağlamakta, A alt ünitesi ise 28S ribozomları inaktive eden N-glikosidaz enzimine sahip olduğundan protein sentezi bloke edilmektedir (Buchanan ve Doyle, 1997).

VT-1 ve VT-2 reseptörü olarak tanımlanan globotriosyl ceramide (GC), insan böbreği korteksinde ve endotelial hücre kültürlerinde bulunmaktadır. Bu durumda GC'nin, VT-1 ve VT-2'nin fonksiyonel reseptörü olarak tanımlanması verotoksijenik *E. coli*'nin hemolitik üremik sendromdaki etiyolojik rolü ile uyumlu bulunmaktadır. Ayrıca, *E. coli* O157:H7'nin bağırsak hücrelerine bağlanabilme özelliği organizmanın patojenik potansiyelinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Özbaş ve Aytaç, 1995).

Etkenin, sekum ve kolon yüzeyine ve kript epiteline kolonize olması ile mikrovilliler hasar görmekte ve epitel hücreler düzensiz şekil almakta veya dökülmektedir. *E. coli* O157:H7 serotiplerinin çoğunda bulunan 60 mDa plazmidin, fimbrial adhesin ve barsak hücresine yapışmada gerekli olduğu düşünülmektedir (Doyle, 1984, 1991).

Bakterinin yol açtığı enfeksiyonlarda ateşin çok az veya hiç olmaması bakterinin invaziv olmadığı, dolaşım sistemine girmediği şeklinde açıklanmaktadır. Bu durumda bakterinin barsak sisteminde çoğalıp daha sonra bağırsakta etkin olan toksinini salgıladığı düşünülmektedir (Özbaş ve Aytaç, 1995).

E.coli O157:H7'nin gıdalarda verotoksin oluşturup oluşturmadığı yada gıdalarda önceden oluşmuş verotoksinin sindirilmesi ile insanlarda hastalık meydana gelip gelmediği bilinmemektedir. Bunun yanında ısıya dayanıklı olan bu toksinlerin yetersiz ısıtılan gıdada aktivitesini koruduğu görülmüştür. Bu toksin 70°C'de 60 dakika ısıtma ile önemli ölçüde stabil kalmakta, 85°C'de 5 dakikalık ısıl işleme tümüyle inaktive olmaktadır (Halkman ve ark. 2001).

Toksinler *E.coli*'nin patojen özellik gösterebilmesi için yeterli değildir. Patojen olmayan, toksin üreten izolatlar insanlardan sıklıkla izole edilmektedir. Enterohemorajik *Escherichia coli*'nin tam olarak patojen olabilmesi için diğer virulans faktörlerinin varlığı da gereklidir. Örneğin, EHEC suşları içinde sıklıkla bulunan *eae* kromozomal geni, tutunma ile ilişkili dış membran proteinini kodlamaktadır. Tam olarak açıklanmamış olmakla beraber, enterohemolizin kodlayan plazmid varlığı EHEC için karakteristiktir (Buchanan ve Doyle, 1997).

2.1.5. *E.coli O157:H7*'nin Neden Olduğu Hastalıklar

E.coli O157:H7'nin yapmış olduğu hastalıklar tipik ve oldukça sert geçen hemorajik kolit (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) olmak üzere üç şekilde görülmektedir (Doyle, 1991).

E.coli O157:H7'ye bağlı en belirgin klinik sendrom olan hemorajik kolit (HC), kontamine gıdanın alınmasından genellikle 1-2 gün sonra hafif, kansız diyare ile başlamakta, takiben kramplar ve kısa süreli ateş görülmektedir. İleri durumlarda kanlı diyare, şiddetli karın ağrısı ve dehidrasyonla seyretmektedir. Hemorajik kolit görülen hastalarda gastrointestinal semptomların görülmesinden yaklaşık bir hafta sonra sarılık, intravasküler eritrosit harabiyeti, trombositopeni, oligo-anüri (idrar oluşumunda yetersizlik), ödem ve akut böbrek yetmezliği gibi semptomlarla karakterize hemolitik

üremik sendrom (HUS) şekillenmektedir. *E.coli O157:H7*'nin neden olduğu diğer bir hastalık ise genellikle yetişkinlerde görülen merkezi sinir sisteminin hasarı sunucu nöbet, felçler ile karakterize trombotik trombositopenik purpura (TTP) dır (Buchanan ve Doyle, 1997).

E.coli O157:H7 kaynaklı enfeksiyonların sıklığına neden olarak enfektif dozun oldukça düşük olması gösterilmektedir. Çeşitli araştırmalara göre 10-100 hücre kadar düşük dozlar ile enfeksiyon oluşabileceği belirtilmektedir. Bu da halk sağlığı açısından Enterohemorajik *E.coli*'nin önemini daha da arttırmaktadır (Cebiroğlu, 1998; Philips, 1999).

2.1.6. *E.coli O157:H7*'nin Canlılığı Üzerine Etki Eden Etmenler

Yapılan araştırmalar, *E.coli O157:H7* serotipinin aside dirençli olduğunu (Miller ve Kaspar, 1994) ve bu özelliğinin, midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçmesini sağladığını , benzer şekilde mayonez, fermente et ürünleri, cottage peyniri, elma şarabı gibi asitli gıdalarda diğer patojenler inhibe olurken bu ortamın, etkenin gelişmesinde avantaj olduğunu göstermektedir (Leyer ve ark., 1995; Halkman ve ark, 2001). Bu özelliğin, etkenin hafif asidik ortamlarda bir süre tutulması sonucunda daha düşük pH değerlerini tolere etmelerini sağlayacak proteinlerin sentezlenmesinden kaynaklandığı ifade edilmektedir (Garren ve ark, 1997).

E.coli O157:H7'nin asidik ortamda gelişmesi ve canlı kalması üzerine yapılan bir başka çalışmada da değişik sıcaklıklarda asetik (pH 5.2), sitrik (pH 4.0), laktik (pH 4.7), malik (pH 4.0), mandelik (pH 5.0) veya tartarik (pH 4.1) asit ile pH'nın düşürülmesinin etkenin canlılığı ve gelişimi üzerine etkisi değerlendirilmiş, elde edilen sonuçlarda etkenin 10°C'de mandelik, sitrik ve malik asit ile diğer uygulamalara göre daha yüksek oranlarda inaktive edildiği görülmüştür. Ayrıca *E.coli O157:H7*'nin asidik ortamda canlılığını 56 güne kadar koruyabildiği (pH \geq 4.0), fakat canlılığın asit tipinden ve ortam sıcaklığından etkilendiği belirtilmiştir (Comner ve Kotrola, 1995).

Sığır karkas dokusuna tutunan *E.coli O157:H7*'ye karşı organik asitlerle yıkamanın (asetik, laktik veya sitrik asit) etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, asit

konsantrasyonunun, doku tipinin ve bakteriyel suş faktörlerinin yağlı veya yağsız dokuda bakteri popülasyonunun azaltılmasında etkili olduğunu tespit edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca organik asitlerin, kırmızı etteki *E.coli* O157:H7 popülasyonunu azalttığı ancak tamamen inaktive etmediği belirtilmektedir (Cutter ve Siragusa, 1994).

Çiğ sığır etinde ılık (20°C) ve sıcak (55°C) asetik, sitrik ve laktik asit spreyleme işleminin *E.coli* O157:H7'nin canlılığı üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmada, etkenin aside tolerans gösterdiği ve asitlerin mikroorganizma üzerinde önemli bir antimikrobiyal aktivite gösteremediği ve herhangi bir asit uygulamasından pratik kullanımda beklenen yararın bulunamadığı ifade edilmiştir (Brackett ve ark.,1994).

Yapılan çalışmalarda *E.coli* O157:H7'nin minimum üreme sıcaklığının 8°C (Rajkowski ve Marmer, 1995), maksimum üreme sıcaklığının ise 44.0-45.0°C olduğu, etkenin ısıya duyarlı olmasına rağmen dondurma işlemlerine karşı dayanıklı olduğu ve -20°C ve -80°C'de depolanan donmuş sığır kıymasında 9 ay canlılığını koruyabildiği belirtilmektedir (Doyle, 1984; 1991).

Sığır etlerinde gerçekleştirilen termal inaktivasyon çalışmaları, *E.coli* O157:H7 serotipinin olağan dışı bir sıcaklık direncinin olmadığı, D değerinin 57.2, 60.0, 62.8, 64.3°C'ler için sırasıyla 270, 45, 24 ve 9.6 saniye olarak bulunduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, uygun bir ısıl işlemin sığır etlerinde *E.coli* O157:H7'nin öldürülebilmesi için yeterli olabileceğini ortaya koymaktadır.Yapılan diğer bir çalışmada ise sütün pastörizasyonunun (72°C, 16.2 sn) ml'de 10⁴ *E.coli* O157:H7'den fazlasını öldürebileceği tespit edilmiştir (Doyle, 1991).

Araştırmacılar, ürün kompozisyonunun *E.coli* O157:H7'nin ısı ile inaktivasyonunda etkili olduğunu, su aktivitesinde görülen azalma sonucu oluşan yağlı ortamlarda bakterinin ısıyla daha zor tahrip olduğunu ifade etmektedirler (Ahmed ve ark., 1995). Yağlı (%30,5) ve yağsız (%2) sığır kıymasına *E.coli* O157:H7 inokule edilerek D değerlerinin tespitine yönelik yapılan bir çalışmada, artan yağ oranı ile birlikte daha yüksek D değerleri elde edildiği belirtilmektedir (Line ve ark, 1991).

Kıyma tipi ürünler daha yüksek nem (yaklaşık %72) ve daha düşük yağ içeriğine (yaklaşık %7-8) sahip olduğundan bunlarda azalan yağ düzeyi ve diğer ilişkili komponentler (tuz, artan nem gibi) *E.coli O157:H7* üzerine ısının letalitesini arttırabilmektedir (Buchanan ve Doyle, 1997).

Fermente kurutulmuş sucukta fermentasyon, kurutma ve depolama koşullarının ve NaCl ve pH ortamının *E.coli O157:H7*'ye etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, etkenin %6.5 veya daha az NaCl içeren ve pH 4.5-9.0 olan TSB ortamında üreyebildiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada etkenin sucuğun fermentasyon, kurutma ve depolama koşullarında gelişmediği ancak starter kültür kullanımına bakılmaksızın canlılığını koruduğu, bu yüzden sucuk hamurunda kullanılan sığır etindeki *E.coli O157:H7* miktarının çok düşük olması veya hiç olmaması gerektiği vurgulanmıştır (Glass ve ark., 1992).

Sucuk üretiminde farklı nitrit dozlarının (100, 150, 200 ppm NaNO₂) ve starter kültür (*Lactobacillus plantarum* + *Staphylococcus carnosus*) kullanımının *E.coli O157:H7*'nin gelişimi üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada *E.coli O157:H7* sayısında olgunlaşma ve depolama sürecinde azalma görüldüğü ancak, bu azalmada starter kültür kullanımı ve nitrit miktarının önemli bir etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir. Çalışmada *E.coli O157:H7*'nin redüksiyonunda kurutmanın önemli olduğu, bu yüzden yeterince olgunlaştırılmamış sucukların etkeni içerebileceği ve insan sağlığı için tehlike oluşturabileceği ifade edilmektedir (Öz ve ark., 2002).

Isı şoku ve gelişme atmosferinin *E.coli O157:H7* serotipi üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada bakterilerin normal gelişme sıcaklıklarının birkaç derece üzerindeki sıcaklıklara maruz bırakıldıklarında hücrelerin yeni bir grup protein sentezlediği ve daha sonra kendileri için öldürücü olabilecek sıcaklıklara karşı daha iyi direnç gösterdiği belirtilmektedir. Çalışmada, aerobik ve anaerobik koşullarda üreyen *E.coli O157:H7*'ye ısı şoku uygulanması sonrasında ısı işlemlerde canlı kalabilen organizma sayısının arttığı gösterilmiştir. Bu sonuç, bakteriye uygulanan ısı stresi veya ısı şokunun bakterinin inhibisyonu için seçilen proses sıcaklığında *E.coli O157:H7*'nin canlı kalabilme yeteneğini arttırabileceğini ifade etmektedir (Morano ve Pierson, 1993).

E.coli O157:H7'nin gelişmesinde modifiye atmosferin ve sıcaklığın etkisinin incelendiği bir çalışmada da denenen çeşitli gaz kompozisyonlarının (CO₂/O₂/N₂ : 0/5/95, 0/10/90, 5/10/85, 5/20/75, 10/5/85 ve 10/20/70) hiçbirinin 5, 10 ve 20°C'de bakteri üzerine inhibitör etki göstermediği belirtilmiştir. Ayrıca etkenin, buzdolabı sıcaklığında canlı kalabildiği, sebzeler için tolere edilebilir gaz kompozisyonlarının etken üzerinde inhibitör etkisinin olmadığı sonucuna varılmış, etkenin çiğ ve yarı işlenmiş sebzelerde bulunarak tüketiciyi enfekte edebileceği belirtilmiştir (Hao ve Brackett, 1993).

Radyasyon uygulamalarının *E.coli O157:H7*'nin canlılığı üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada, *E.coli O157:H7*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* inokule edilen çiğ sığır kıyması 0 ile 2.52 kGy arasındaki dozlarda ⁶⁰Co gama irradasyon uygulamasına tabi tutulmuştur. Radyasyon uygulanan her bir patojenin inaktivasyonunda soğutma (3°C , 5°C), dondurma (- 17°C, -15°C) ve yağ oranlarının etkisi değerlendirilmiştir. *E.coli O157:H7* için D₁₀ değeri 0,241-0,307 kGy arasında değişirken radyasyonun uygulandığı sıcaklığın -17°C ve -15°C olması 3°C ve 5°C olmasına göre istatistiksel açıdan önemli ölçüde (P< 0.05) daha yüksek D₁₀ değeri sağlamıştır. Yağ oranı ve radyasyonun uygulandığı sıcaklığa bakılmaksızın her üç patojenin de radyasyona çok duyarlı oldukları, 2.5 kGy radyasyon uygulamasının 10⁸ miktarındaki *E.coli O157:H7*'yi inaktive edeceği, bu durumun da kıymalarda bulunabilecek daha az sayıdaki bakteri için tümüyle inaktivasyon anlamına geldiği belirtilmektedir (Clavero ve ark., 1994).

Farklı ortam koşullarında *E.coli O157:H7*'nin canlılığını ne kadar süre devam ettireceği konusunda da araştırmalar yapılmış, bir çalışmada toprakta 130 günde 10⁸/g düzeyinden sadece 10⁷'ye azalma olduğu, sığır dışkısında 50 günden daha fazla süre içinde halen belirlenebilecek düzeyde kaldığı, buna karşın 10⁶/ml düzeyinde inokulasyonlar sonucunda sayının sığır idrarında 10 günde, nehir suyunda 7 günde belirlenemeyecek sayıya düştüğü gösterilmiştir. Laboratuvar analizleri ile *E.coli O157:H7* serotipinin kumlu topraklarda ölüm hızının çok yüksek olduğu, 8 haftalık süre içinde 10⁵ kob/g olan başlangıç sayısının belirlenemeyecek düzeye indiği, buna karşın killi topraklarda 20 hafta içinde sadece 2 logaritma birimi canlılık azalması olduğu

belirlenmiştir. Süt sığırlarının dışkılarına 10^3 ve 10^5 kob/g düzeyinde *E.coli O157:H7* aşılıp 5, 22 ve 37°C 'lerde dışkının depolandığı bir çalışmada ise *E.coli O157:H7*'nin 5°C 'da 70 gün canlılığını koruduğu, bu bulgulara göre sığır dışkısının sığırlara, gıdalara ve çevreye *E.coli O157:H7*'nin yayılmasında potansiyel bir taşıyıcı olduğu, dolayısıyla ahırlarda dışkının iyi bir şekilde kontrol edilmesi gerektiği belirlenmiştir (Halkman ve ark, 2001).

Ayrıca yapılan çalışmalarda çayırlarda bulunan *E.coli O157:H7*'nin daha sonraları silo uygulamaları ile silajda $10^6/\text{g}^{-1}$ gibi büyük miktarlara ulaşabileceği belirtilmektedir (Fenlon ve ark., 2000).

2.2. Mezbaha Hijyeni ve HACCP Uygulamaları

Sağlıklı hayvansal ürünler elde etmenin birinci koşulu, sağlıklı hammadde sağlanmasıdır. Sağlıklı et ve et ürünlerinin temini için ise öncelikle etin en iyi teknik ve hijyenik koşullara sahip mezbahalarda usulüne uygun olarak kesilmiş sağlıklı kasaplık hayvanlardan elde edilmiş olması gereklidir. Genel olarak sağlıklı hayvanlardan elde edilen ve hijyenik koşullara uyularak üretilen et ve et ürünlerinin mikroorganizmaları içermemesi gerekmektedir (Anar, 2000). Ancak, kesimden sonra canlı organizmada olduğu gibi savunma sistemi olmadığından kasaplık hayvanın kesimi ile birlikte herhangi bir kontaminasyon sonunda mikroorganizmalar karkasın dış yüzeyinde doku ve organlara yerleşmekte ve hatta dokuların içine kadar girmektedirler (Uğur ve ark., 1997).

Kasaplık hayvanların kesimi sırasında ve sonrasında mikroorganizmaların karkas ve organlara sekonder kontaminasyonuna neden olan çeşitli kaynaklar bulunmaktadır. Bunların başında hayvanın kendisinden kaynaklanan kontaminasyonlar gelmektedir. En önemlisi fekal kontaminasyonlar olup, özellikle hayvanın bağırsakları kesim sırasında karkasın fekal kontaminasyonunda önemli bir kaynak durumundadır. İnce barsak içeriği $10^7/\text{g}$ - $10^8/\text{g}$, kalın barsak içeriği ise $10^{11}/\text{g}$ - $10^{12}/\text{g}$ mikroorganizma içermekte ve bunların önemli bir kısmını *Clostridium*, *E.coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter* gibi mikroorganizmalar oluşturmaktadır (Uğur ve ark., 1997).

Bağırsakların dışında diğer önemli kontaminasyon kaynakları; fekal kirlenmenin yoğun olduğu hayvan derisi, ayakları ve kuyruğudur. Kesim sırasında organizmaların deriden karkasa transferinin ve iç organların çıkarılması sırasında barsak içeriğinin bulaşmasının önlenmesi esastır. Bunların sağlanmasında derinin yüzülmesinde karkasın kontaminasyonunun önlenmesi için deneyimli eleman çalıştırmak ve mide ve bağırsakların çıkarılmasından önce yemek borusu ve rektumun bağlanması gerekmektedir. Kesim ve işleme süresince kontamine karkas, patojen mikroorganizmaların gıda zincirine girişinde önemli bir yol oluşturmaktadır. Bu yüzden hayvanların temizliği önem arz etmektedir. Mezbahalardaki sığır ve koyunların temizliği, son ürünün hijyen kalitesini etkilemektedir. Hayvanların kesim zamanında ıslak veya kirli olmaması gerekmektedir (Food Safety Authority of Ireland, 1999).

Mezbaha ve et işletmelerinde çalışan personel, el ve kolları ile veya ağız ve burundan çıkan sekresyon damlacıkları, kullandıkları alet, gereç ve giysileri ile karkası kontamine etmektedirler. Derinin yüzülmesi, iç organların çıkarılması, karkasın parçalanması gibi uygulamalarda kullanılan alet ve gereçler hijyenik olarak temiz değilse kesim sırasında karkas, bıçak ve diğer gereçlerle kontamine olmaktadır (Uğur ve ark., 1997). Etin küçük parçalara ayrılması, yüzey alanını mikrobiyal kontaminasyonun artışına uygun hale getirmektedir. Parçalama odalarının sıcaklığının 12°C'den yüksek olmaması, et mezbahadan hemen çıkarılmıyorsa soğutulmuş etin sıcaklığının 7°C'yi geçmemesi, masa, kesim tahtası, taşıma bandı ve eldivenler gibi temas yüzeylerinin temizliğinin hijyen kurallarına uygun, kullanılan suyun ise içme suyu niteliğinde olması gerektiği ifade edilmektedir (Food Safety Authority of Ireland, 1999).

Ette normalde bulunan başlangıç mikroorganizma yükünün, kesim sırasında teknoloji ve hijyen kurallarına uyularak minimum düzeyde tutulması arzu edilmekte, aksi halde bu mikroorganizmaların çok çabuk bir şekilde üreyerek etin kalitesinin düşmesine veya bozulmasına neden olduğu belirtilmektedir. Sağlık kurallarına uygun olarak kesilmiş ve çeyrek parçalara ayrılmış karkasların yüzeysel aerob bakteri yükü 10^3 - 10^5 /cm² civarında, koliform ve psikotrof mikroorganizmalar ise 10 - 10^2 /cm²'yi geçmemelidir (Uğur ve ark., 1997).

Bütün bu kontaminasyon riskleri dikkate alındığında tüketiciye her yönden kaliteli et sunabilmek için mezbaha teknolojisinde patojen bakterilerin kesimin hangi aşamasında karkasa bulaştığı ve kontaminasyonun önlenmesi için hangi kontrol sistemlerinin uygun olduğunun belirlenmesi gerekmektedir. Bunun sonucu olarak, kesimin çeşitli aşamalarında meydana gelen mikrobiyolojik kirlenmeyi önleyebilmek için “Kritik Kontrol Noktalarının Tehlike Analizi (Hazard Analysis Critical Control Points-HACCP)” sistemi uygulamaya girmiştir (Altuğ ve ark., 1995).

İlk kez 1960’lı yıllarda ABD’de uygulamaya konulan ve 1971 yılından itibaren gıda endüstrisinde geliştirilerek kullanılmaya başlanan HACCP sistemi, sağlıklı ve güvenilir gıdaların üretimi sırasında sistematik bir yaklaşımla tehlike analizleri yaparak kritik kontrol noktalarını belirleyen, izleyen, problem çıkmadan önlenmesini amaçlayan koruyucu bir sistemdir. Bu sistemin gıda endüstrisinde kullanımı, gıda güvenliğini garanti etmesi ve aktif bir program olması nedeni ile giderek artmaktadır (Soyer, 2000).

HACCP programı, her bir et işletmesinin ürettiği ürün için kendi sistemlerine özgü olarak aşağıdaki yedi ilkeye dayanılarak hazırlanmalı ve uygulanmalıdır;

- Tehlikelerin tanımlanması
- Kritik kontrol noktalarının tanımlanması
- Kritik limitlerin belirlenmesi
- İzleme yöntemlerinin belirlenmesi
- Düzeltici işlemlerin belirlenmesi
- Dokümantasyon yöntemleri
- Doğrulama yöntemleri

Et işletmelerine HACCP programının yerleştirilmesinde yapılan uygulama, diğer gıda işletmelerindeki uygulamalara benzemekle beraber başlıca farklılık, özellikle kesimhanelerden başlayarak biyolojik tehlikelere açık bir alan olmasından kaynaklanmaktadır. Büyük ve küçük baş hayvanlardan ve kümes hayvanlarından elde edilen çiğ etlerde mikrobiyel kaynaklı tehlikelerin tamamen ortadan kaldırılabilmesi bir

uygulama bulunmamaktadır. Amaç, et işletmelerindeki mikrobiyolojik tehlikeleri olabildiğince azaltmak olmalıdır (Soyer, 2000).

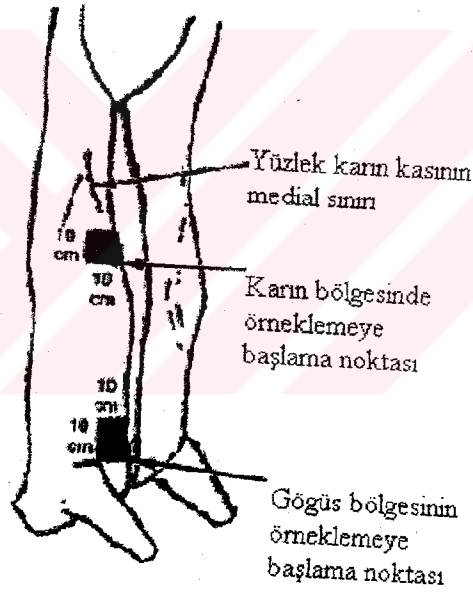
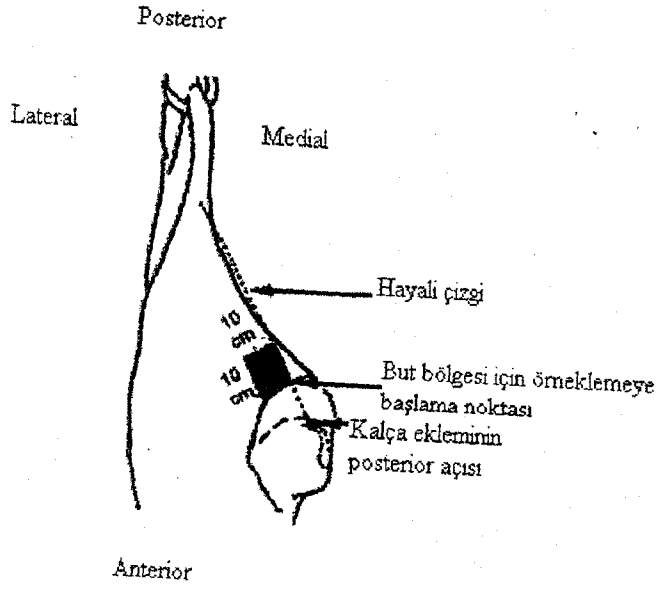
HACCP sisteminde tehlike oluşturabilecek noktalar sınıflandırılmış ve teknolojik hatalardan kaynaklanan tehlikeleri kapsayan Kritik Kontrol Noktası-1 (CCP-1) ve mikrobiyolojik kontaminasyonların olabileceği noktaları kapsayan Kritik Kontrol Noktası-2 (CCP-2) olarak ikiye ayrılmıştır. Sığır mezbahalarında başlıca CCP-2'ler, taşıma ve mezbahada toplanma yerinde bir hayvandan diğerine hava, toprak ve dışkı aracılığıyla enfeksiyon etkenlerinin bulaşması, hayvanın derisinden ve dışkılarından kesim ve derinin yüzülmesi sırasında bıçak, işçi elleri, kullanılan alet ve malzemelerle olabilecek kontaminasyonlar, iç organların çıkarılması sırasında muhtemel yırtılmalar sonucu karkasın mide-barsak içeriği ile kontaminasyonu, soğutma, kemiklerin çıkarılması, paketleme gibi aşamalarda çalışılan ortam, çalışanların el, elbise ve kullanılan ekipmanlardan olabilecek çapraz kontaminasyonlar, tüketime sunulmak üzere kasap dükkanları ve süpermarketlerde depolanması sırasında olabilecek kontaminasyon risklerini kapsamaktadır (Altuğ ve ark., 1995).

2.3. Örnekleme, İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri

2.3.1. Karkaslardan *E.coli* Analizinde Örnekleme Yöntemi

Amerika Tarım Bakanlığı Gıda Güvenliği ve Muayenesi Servisi (USDA-FSIS-1996) tarafından hazırlanan rehberde patojen azaltımı ve HACCP kapsamında tüm kesim proseslerinin kontrolünde *E.coli* analizinin gerekli olduğu vurgulanmaktadır.

Örneklerin Şekil 2.3.1.1.'de görüldüğü gibi, tesadüfi örnekleme metodu ile seçilen yarım karkasların karın, göğüs ve but bölgelerinin 100 cm²'lik alanından sürütme yöntemi ile alınması önerilerek sığır karkaslarında *E.coli* sonucunun negatif olması istenmektedir. Sınır değerinin 100 kob/cm² olduğu belirtilmekte ve bu değer üstündeki değerlerin kabul edilmediği ifade edilmektedir (FSIS-USDA, 1996). Steril örnekleme solüsyonu olarak Butterfield's phosphat diluent (BPD) veya %0.1 peptonlu su kullanılabilir (Bacteriological Analytical Manual, 1995).



Şekil 2.3.1.1. Sığır karkaslarından *E.coli* analizinde örnekleme noktaları (FSIS-USDA, 1996)

2.3.2. Koliform ve E.coli'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu:

Gıdalarda koliform bakterilerin sayımları; en muhtemel sayı (EMS), dökme plak veya membran filtrasyon teknikleri ile yapılabilmektedir. Yöntem seçiminde incelenen gıda örneğinin niteliği, koliform bakteri yükü ve laboratuvar olanakları dikkate alınmaktadır.

2.3.2.1. En Muhtemel Sayı Yöntemi (EMS):

Aseptik şartlarda alınan 25g örneğe, steril blender kabı veya stomacher torbasında 225 ml tamponlanmış peptonlu su eklenip karıştırılarak uygun seyreltimler hazırlanmakta ve her seyreltimden içinde LST (Lauryl Sulphate Tryptose) broth bulunan üçer tüpe birer ml inokule edildikten sonra 35-37°C'de 24-48 saatlik inkübasyon sonucu gaz oluşumu görülen LST tüplerinden Brilliant-Green Lactose Bile (BGLB) broth içeren tüplere birer öze dolusu ekim yapılmaktadır. 35-37°C'de 24-48 saat inkübasyon sonucu gaz oluşumu ile koliform bakterilerin varlığı doğrulanmakta ve pozitif tüplerin sayısına göre EMS tablosundan birim gıdadaki koliform miktarı belirlenmektedir. BGLB besiyerinde koliform varlığı saptanan tüplerden EC (E.coli) broth besiyerine öze ile ekim yapılarak 45.5°C'da 24 saat inkübe edilmekte ve gaz oluşumu gösteren tüpler pozitif olarak kaydedilip fekal koliform varlığı ve sayısı saptanmaktadır. Koliform organizmayı tür düzeyinde belirlemek için gaz oluşumu görülen EC brohtan L-EMB (Levine's Eosin Methylene Blue Agar) besiyerine ekim yapılarak 35°C'de 18-24 saat inkübasyonun ardından üreyen 2-3 mm çapında koyu mor merkezli metalik parlaklık gösteren kolonilerin tür tayini için IMVIC (Indol, Metil Red, Vogler-Proskauer ve Citrate) testi uygulanmaktadır (Borcaklı ve ark., 1994).

2.3.2.2. Dökme Plak Yöntemi

Gıda maddesinin homojenize edilerek hazırlanan seyreltimlerin her birinden steril petri kutularına 1'er ml aktarılıp üzerlerine 44-46°C'ye soğutulmuş VRB (Violet Red Bile) agar 10-15 ml olacak şekilde dökülmekte, örnek ve besiyerinin, petrilere uygulanan salınım hareketleri ile karışmaları sağlanmaktadır. Agarın katılaşmasının ardından yüzeyde koloni oluşumunu önlemek amacıyla 5 ml VRB agar eklenerek katılaştıktan sonra ters çevrilen petrilere 35-37°C'de 24 saat inkübe edilmektedir.

Koliform bakteriler, çapları 0.5mm veya daha büyük ve çevrelerinde kırmızı zon

bulunan tipik koloniler oluşturmaktadır. Sayım için 15-150 arasında koloni içeren petripler dikkate alınarak koloni sayısı ile seyreltim faktörü çarpılıp 1g (ml) örnekteki koliform bakteri sayısı belirlenmektedir (Borcaklı ve ark., 1994).

E.coli'nin MUG (4-methyl-umbelliferyl-beta-D-glucuronide) aktivitesinden yararlanılarak MUG katkılı besiyerleri de geliştirilmiştir. Bu tekniğin prensibi, doğrudan besiyerine ilave edilen veya selektif katkı olarak ilave edilen 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG) adlı bileşiğin *E.coli*'de yapısal bir enzim olarak bulunan β -D-glucuronidase enzimi tarafından 4-methylumbelliferone adlı florojenik bir ürüne dönüşmesi ve bu ürünün de 366nm dalga boylu ultraviyole ışık altında floresan ışımaya vermesi esasına dayanmaktadır. *E.coli* analizlerinde en çok kullanılan MUG katkılı katı besiyeri MUG'lu VRB agardır. İnkübasyon sonrası bu besi yerinde oluşan tipik koloniler koliform grup, floresan veren koloniler ise *E.coli* olarak değerlendirilmektedir. *E.coli* olarak tespit edilen kolonilerin IMVIC testleri ile doğrulanması gerekmektedir (Çakır, 1999).

2.3.2.3. Membran Filtrasyon Tekniği:

Bu yöntemde selüloz asetat veya selüloz esterlerinden yapılmış, 0.45 μ gözenek büyüklüğünde özel membran filtreler kullanılmaktadır. Filtrasyon sistemine yerleştirilen membran filtreden homojenize edilmiş örneğin veya sıvı gıda örneğinin vakum uygulaması ile süzülerek örnekteki bakterilerin filtre üzerinde tutulması sağlanmaktadır. Süzme işleminin ardından filtre steril bir pens yardımıyla içinde M-endo besiyeri bulunan petri kutusuna filtre yüzeyi üstte kalacak şekilde yerleştirilmekte ve 35°C'de 22-24 saat inkübasyonun ardından gelişen koloniler sayılmaktadır. Hesaplama filtre yüzeyinde gelişen koloni sayısı ve süzülen örnek miktarı dikkate alınarak birim miktardaki bakteri sayısı tespit edilmektedir (Borcaklı ve ark., 1994).

2.3.3. *E.coli* O157:H7'nin İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri

E.coli O157:H7 serotipinin çeşitli gıda, klinik ve çevre örneklerinde aranmasına yönelik olarak kısaca klasik ve gelişmiş olarak 2 ana grupta toplanabilecek çeşitli yöntemler bulunmaktadır (Halkman ve ark., 2001).

2.3.3.1. Klasik yöntemler:

E.coli O157:H7'nin belirlenmesi için kullanılan klasik yöntemlerin büyük çoğunluğu, selektif zenginleştirme ve katı besiyerlerine ekim aşamalarını içeren var/yok testleri şeklindedir. Buna göre materyalde *E.coli O157:H7*'nin varlığının gösterilmesi sırasıyla selektif bir sıvı besiyerinde zenginleştirme, selektif ve ayırt edici bir katı besiyerine ekim, şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve/veya lateks agglutinasyon testleri ile *E.coli O157* olarak belirlenmesi ve son olarak izolatın H7 antijeni içerip içermediğinin belirlenmesidir. *E.coli O157* olduğu saptanan izolatların verotoksin analizlerinin de yapılması gerekmektedir (Halkman ve ark., 2001).

Gıdalardan *E.coli O157:H7* izolasyonunda kullanılan besiyerlerinin başlıcaları Sorbitol MacConkey agar, Hemorajik colitis agar ve cefixime tellurite içeren SMAC agardır (Bacteriological Analytical Manual, 1995).

Gıdalardan *E.coli O157:H7* izolasyon metoduna yönelik yapılan çalışmalarda hemorajik kolit oluşturan *E.coli* suşlarının izolasyonunda tryptone besiyerinin geliştirildiği, bu besiyerine ilaveten sorbitol, indikatör boya, florojenik substrat (4-metilumbelliferyl-beta-D-glukuronid), NaCl (üreme için sıcaklık limitini yükseltir) ve enterik olmayan organizmaların inhibisyonu için safra tuzunun kullanıldığı belirtilmiştir (Szabo ve ark, 1986).

E.coli O157:H7'nin et ve süt gibi gıdalardan izolasyon ve identifikasyonunda SMAC (Sorbitol Mac Conkey Agar) ve MUG agar kullanımı bildirilmiş, ancak *E.coli O157* antiserumu ile aglutinasyon veren *E.hermannii*'nin varlığından dolayı identifikasyonda hatalı sonuçların elde edildiği belirtilmektedir (Borczyk ve ark., 1987).

Sığır kıymasından *E.coli O157:H7*'nin izolasyon metodu ile ilgili yaptıkları çalışmalarda novobiocinli modifiye EC broth (20 mg/l novobiocin) kullanımını takiben SMAC agarda 42°C'de 24 saat inkübasyon uygulanmış, ayrıca SMAC agarda sorbitol negatif koloniler için PRS-MUG (phenol red sorbitol agar ve 4 methylumbelliferyl-beta-D-glucuronide) ve Levine EMB (Eosine Methylene Blue) agar besiyerleri kullanılmıştır. Sorbitol ve MUG reaksiyonları negatif ve EMB'de tipik *E.coli* özelliği gösteren

kolonilerin biyokimyasal ve serolojik olarak doğrulaması yapılmıştır. Bu metodun, geniş tarama çalışmalarında güvenilir ve kullanım için yeterince basit olduğu vurgulanmıştır (Okrend ve ark, 1990a).

Sığır kıymasından *E.coli O157:H7* izolasyonunda BCIG (5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-beta-D-glucuronide) içeren SMAC kullanımına yönelik yapılan bir başka çalışmada da SMAC agara 0.1g/l düzeyinde BCIG ilavesi ile β -glucuronidase pozitif kolonilerin negatif kolonilerden ayrımının sağlandığı belirtilmiştir. *E.coli O157:H7* kolonilerinin sorbitol negatif, β -glucuronidase negatif olduğu ve BCIG ilavesi ile hatalı şüpheli kolonilerin miktarının %36 azaltıldığı vurgulanmaktadır (Okrend ve ark., 1990b).

Süt sığırlarından *E.coli O157*'nin izolasyonunda hassas ve seçici agarların kullanımına yönelik yapılan bir çalışmada da novobiocinli modifiye TSB (Trypticase Soy Broth)'de zenginleştirme ve Chromagar O157 kullanımının sahte pozitif sonuçları azalttığı ifade edilmiştir (Wallance ve Jones, 1996).

E.coli O157:H7'nin izolasyon prosedürlerinde kullanılan zenginleştirme kültürlerinin karşılaştırılmasının yapıldığı bir çalışmada TSB, modifiye TSB, novobiocinli modifiye EC, vancomicine, cefixime ve cefsoludin içeren mTSB veya cefixime, tellurite ve vancomicine içeren TSB zenginleştirme kültürleri kullanılmış ve *E.coli O157:H7*'nin izolasyon prosedüründe en etkili zenginleştirme prosedürünün mTSB veya novobiocinli mEC kullanılarak 42°C'de 18 saat inkübasyon olduğu belirtilmiştir (Hara-Kudo ve ark., 1999).

E.coli tip 1'in belirlenmesine yönelik tüm temel identifikasyon testleri *E.coli O157:H7* serotipi belirlenmesi için de kullanılabilir. Buna göre *E.coli O157:H7* serotipinde MUG, H₂S oluşturma, Voges-Proskauer, sorbitol testleri negatif, laktoz, glikozdan gaz oluşturma, indol, metil red, hareket ve lisin dekarboksilaz testleri ise pozitifdir (Halkman ve ark., 2001).

E.coli O157:H7 serotipinin kesin identifikasyonunda sorbitol negatif ve MUG negatif kolonilerin O157 ve H7 antiserumları ile agglutinasyonu gerekmektedir. Agglutinasyonda *Escherichia hermanii* ve *Citrobacter freundii* bakterileri de O157 antiserumu ile agglutinasyon verebildiklerinden sahte pozitif identifikasyonlar görülebilmektedir (Bacteriological Analytical Manual, 1995).

2.3.3.2. Gelişmiş Yöntemler:

Klasik yöntemler ile bir çok enfeksiyon indirekt olarak teşhis edilebilmekte ise de bunlar bazen yetersiz kalmaktadır. Bu yöntemlere son zamanlarda yeni serolojik metodlar, özellikle immunoassay, radioimmunoassay (RIA), fluorescent immunoassay (FIA), enzim immunoassay (EIA), immun peroksidaz testleri gibi yöntemler ilave edilerek bakterilerin teşhisinde daha güvenli ve erken sonuçlar alınmaktadır. Bunlar arasında latex agglutinasyon, ELISA, koloni immunoblot analizleri, direkt immunofloresan filtre ve immun yakalama teknikleri *E.coli O157:H7* analizlerinde kullanılmaktadır. Bu amaçla O ve H antijenlerine karşı monoklonal ve poliklonal antiserumlar geliştirilmiştir. Bu sistemlerde 1 gecelik inkübasyon sonrasında 1 kob/g'dan daha az sayıda olan *E.coli O157:H7* varlığı belirlenebilmektedir (Halkman ve ark., 2001).

Hidrofobik Grid Membran Filtre-İmmunoblot tekniği de *E.coli O157:H7*'nin gıdalardan analiz edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Bu teknikte seçici zenginleştirme, zenginleştirme besiyerinin hidrofobik grid membran filtrelerden (HGMF) süzülmesi, nitrosellüloz kağıtlı her bir filtrenin selektif agarlarda inkübe edilmesi, her bir nitrosellüloz filtre için *E.coli O157:H7* kültür filtratına antiserum kullanılarak immunoblot hazırlanması, immuno pozitif olarak değerlendirilen kolonilerin filtrelerden seçilmesi, izolatların Biken test taraması, vero hücre toksisite testlerinin yapılması basamakları izlenmektedir (Doyle ve Schoeni, 1987).

O157 spesifik antikorları ile kaplı manyetik bilyeler kullanılarak yapılan *E.coli O157:H7*'nin izolasyon çalışmasında etken, karışık kültürlerden ve sığır kıyması örneklerinden geri alınmıştır. Bu prosedürün, inokule edilmiş et örneklerinden *E.coli O157:H7*'nin geri alınmasında verimli olduğu belirtilmiş, yakalanan *E.coli O157:H7*

hücrelerinin miktarının %48'den %100'e kadar ulaştığı ifade edilmiştir (Okrend ve ark., 1992).

E.coli O157'nin gıdalarda Immuno Manyetik Seperasyon (IMS) ile aranması çalışmasında deneysel olarak sığır kıymasına inokule edilen *E.coli O157:H7*'nin geri alım oranları değerlendirilmiş ve en iyi sonucun TSB ve Brilliant Green Lactose Bile broth zenginleştirme kültürü kullanımını takiben IMS ve Hemorajik kolitis (HC) agar ve cefixime-tellurite Sorbitol Mac Conkey (CT-SMAC) agar uygulaması ile alındığı belirtilmiştir. Sonuçlar, IMS'nin hassas ve çabuk bir yöntem olduğunu göstermektedir (Heckoetter ve ark., 1997).

Düvelerin dışkı örneklerinde *E.coli O157:H7* aranmasında immunokonsantrasyon sistem (ICS) kullanımı ile ilgili yapılan bir çalışmada da ICS'nin dışkı örneklerinden etkenin izolasyonunu büyük oranda geliştirdiği belirtilmiştir. Normal zenginleştirme sonrasında örnekler, SMAC ve CT-SMAC agara aktarılmış, ve sırasıyla %8 ve %56 geri alım sağlanmıştır. ICS uygulamasının ardından ise örneklerin geri alım oranlarının SMAC agardan %92, CT-SMAC agardan ise %100 olduğu belirtilmiştir (Vernozy-Rosand ve ark., 2000).

Gıda ve dışkı örneklerinden verotoksin üreten *E.coli*'nin izolasyon prosedüründe, optimize edilmiş zenginleştirme, ELISA veya PCR kullanılarak hassas VT tarama testi ve Verositotoksik *E.coli* veya Enterohemorajik *E.coli* suşlarının spesifik izolasyon yöntemleri kullanılmıştır. Zenginleştirme yöntemlerinde uygun besiyerinin mTSB olduğu, dışkı örneklerinde çalkalama ve mitomycin C ilavesi ile hassasiyetin artırılacağı belirtilmiştir. Çalışmada izolasyon oranının %90'dan fazla olduğu ifade edilmekte ve bu yöntemin IMS ile kombine edilmesi önerilmektedir (Timm ve ark., 1998).

Gıdalarda shiga toksin üreten *E.coli* (STEC)'nin aranması ve izolatların karakterizasyonuna yönelik yapılan başka bir çalışmada da çiğ süt, çiğ ve az pişmiş sığır kıyması, sığır sucuğu gibi hayvansal kaynaklı gıdalardan shiga toksin üreten *E.coli*'nin analizi PCR (Polimerase Chain Reaction) kullanılarak yapılmıştır. Çok basamaklı bu

prosedür; iki basamaklı zenginleştirme, tarama testi, spesifik STEC izolasyon ve karakterizasyonunu içermektedir. Çalışmada STEC izolatları, genler tarafından kodlanan 10 tane virulans faktörünün varlığı (stx₁, stx₂, eae, hlyA, kat P, esp P, etp D, ast A, colD157 ve ilex) yönüyle de kontrol edilmiştir (Gallien ve ark., 1998).

Yapay veya doğal olarak kontamine edilmiş çiğ peynir, kanatlı eti, çiğ sucuk ve sığır kıyması örneklerinden *E.coli* O157'nin izolasyonunda IMS'yi takiben CT-SMAC agar kültürü ile otomatikleştirilmiş enzime bağlı floresan immün uygulama (ELFA) metodunun karşılaştırıldığı bir çalışmada ELFA yöntemi ile pozitif sonuç veren örneklerin doğrulaması otomatikleştirilmiş immunokonsantrasyon sistemi (ICS) ile yapılmıştır. Analiz edilen 496 gıda örneğinden 17 örnek ELFA yöntemi ile pozitif bulunurken, doğrulama sonrası 9 örnek pozitif sonuç vermiştir. IMS tekniğinin sadece sorbitol negatif, verotoksin üretmeyen *E.coli* O157 suşlarının doğrulamasını sağladığı ifade edilmiştir (Vernozy-Rozand ve ark., 1998).

E.coli O157 izolatlarının verositotoksin üretme özelliklerinin olup olmadığının anlaşılması için Vero hücre kültürü uygulamaları ve VT₁ ve VT₂ genlerinin DNA problemlerinin spesifik hibridizasyonu kullanılarak toksin tiplendirme uygulamaları yapılmaktadır. Ayrıca DNA hibridizasyonu ile *eae A* geninin varlığı ve jel elektroforesis yöntemi ile de 92 kb plasmid varlığı araştırılmaktadır (Chapman ve ark., 1997).

Elde edilen izolatların genotip özelliklerinin belirlenmesinde ise pulsed field jel elektroforesis (PFGE) yöntemi kullanılmaktadır. 1997 yılında İsveç'te görülen verositotoksik *E.coli* kaynaklı enfeksiyonlarda bir süt sığıcı çiftliğinin şüpheli görüldüğü ve çiftlikteki sığırlardan ve hasta kişilerden alınan dışkı örneklerinden izole edilen etkenin pulsed field jel elektroforesis ile yapılan tiplendirmede aynı izolat olduğunun görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmada IMS tekniğini takiben CT-SMAC agar kültürü, verositotoksin kodlayan genlerin, *eae A* geninin ve enterohemorajik *E.coli*-hemolisin (EHEC-Hly) ve flagellar antijen H7 varlığının belirlenmesi için PCR yöntemi kullanılmıştır (Jonsson ve ark., 2001).

3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Perakende olarak satışa sunulan taze et ve tavuktan *E.coli O157:H7*'nin izolasyonuna yönelik yapılan ilk araştırmada 164 sığır etinin 6'sından (%3.7), 264 domuz etinin 4'ünden (%1.5), 263 kanatlı etinin 4'ünden (%1.5) ve 205 koyun eti örneğinin 4'ünden (%2.0) etken izole edilmiştir. Bu sonuçlara göre, etkenin taze et ve kanatlı ürünlerinde nadir görülen bir kontaminant olmadığına dikkat çekilmektedir (Doyle ve Schoeni, 1987).

E.coli O157:H7 serotipinin neden olduğu hemolitik üremik sendrom ve gastroenteritis salgını ile çiğ süt tüketimiyle ilişkili iki sporadik hemolitik üremik sendrom gözlenmesi süresince 1266 sağlıklı sığırın fekal örneklerinin ve ayrıca 3 çiğ hamburger ve 23 çiğ süt örneğinin incelendiği bir çalışmada etken, 22 çiftlikteki 16 buzağı/düve ve bir ergin süt sığırdan, ahırdaki 1 sığırdan, 2 sığır eti örneğinden ve 1 çiğ süt örneğinden izole edilirken alınan örnekler diğer shiga like toksin üreten *E.coli* (SLTEC) varlığı yönüyle de değerlendirilmiş ve ergin sığırların %8'inden ve düvelerin %19'undan SLTEC izole edilmiştir (Wells ve ark., 1991).

Mayıs-Haziran 1992'de Güney Yorkshire'da bölge mezbahasındaki sığır etlerinin tüketimi ile verositol toksin üreten *E.coli O157* enfeksiyon vakaları arasındaki ilişkinin belirlenmesine yönelik bir çalışma yapılmıştır. Mezbahadaki sığırlardan rektal swablar, et örnekleri ve karkaslardan yüzeysel swablar ile örnekler toplanmış *E.coli O157* yönüyle analize alınmış, izolatlar toksijenite testine, plazmid içeriğine ve faj tiplendirmesine göre test edilmiştir. Etken, 2103 sığır rektal swab örneğinin 84'ünden (%4) izole edilmiş ve izolatların 78'i (%93) verositol toksin pozitif (VT⁺) bulunmuştur. Rektal swab örneği pozitif olan 23 sığır karkasının 7'sinden (%37) ve rektal swab örneği negatif olan 25 sığır karkas örneğinin de 2'sinden (%8) *E.coli O157* izole edilmiştir. Bu çalışma sığırların, VT⁺ *E.coli O157:H7*'nin rezervuarı olabileceğini ve organizmanın proses süresinde sığır eti ve ürünlerini kontamine edebileceğini göstermektedir (Chapman ve ark, 1993).

Ülkemizdeki mezbaha ve kombinalardaki hijyenik durumun tespit edilmesine yönelik yapılan bir çalışmada işletmede çalışan işçilerin çizmelerinden, ellerinden, taşıma arabalarından ve kıyma makinelerinden toplam 60 örnek pamuk sürtme yöntemiyle alınmış ve toplam bakteri, koliform, anaerob mikroorganizmalar ve küf-maya yönünden incelenmiştir. Araştırmalar sonunda söz konusu işletmede yüksek oranda mikroorganizma yükü tespit edilmiş ve hijyenik durumun iyi olmadığı belirlenmiştir (Cumbul, 1994).

Sığır eti endüstrisinde standart mikrobiyolojik örnekleme ve test metotlarına dayalı yapılan bir çalışmada da 3 kesim ve işleme operasyonunda, karkasın göğüs, karın ve but bölgelerinden, yağsız doku ve taşıyıcı yüzeylerinden 40'ar örnek alınmıştır. Analiz sonucunda örneklerde *E.coli O157:H7* analiz edilmezken karkas, yağsız doku ve taşıyıcı yüzeylerdeki aerobik toplam mikroorganizma sayısı ve koliform sayılarının sırasıyla 10^3 - 10^5 ve 10^2 - 10^3 kob/cm² düzeylerinde olduğu belirtilmiştir (Karr ve ark., 1996).

Süt sığırlarının dışkılarından *E.coli O157*'nin izolasyonunda selektif ve farklı besiyerlerinin kullanımına yönelik yapılan bir çalışmada 614 tane *E.coli O157* şüpheli izolatın sadece 4'ünün *E.coli O157* olarak identifiye edildiği bildirilmiştir (Wallance ve Jones, 1996).

Buzağılarda deneysel *E.coli O157:H7* taşıyıcılığına dair yapılan bir çalışmada dokuz tane süttten kesilmiş 6-8 haftalık buzağıya beş suş karışımı, 10^{10} kob oranında enterohemorajik *E.coli O157:H7*, ağız-mide intübasyon yoluyla verilmiş ve etkenin sindirim sistemindeki patojenitesi ve atılımının sürekliliği incelenmiştir. Elde edilen veriler ışığında *E.coli O157:H7*'nin, süttten kesilmiş buzağılarda patojen olmadığı ve mukozal yüzeylerde kolonizasyon oluşturmadığı ancak, rumen ve kolon içeriğinde fekal yayılım kaynağı olarak inatçılık gösterdiği belirtilmiştir (Brown ve ark., 1997).

Sığırlarda *E.coli O157:H7*'nin dışkı ile atılımının sürekliliğinin saptanmasına yönelik bir çalışma yapılmış ve bu çalışmada etkenin rezervuarının sığır olduğunun daha iyi anlaşılması için aylık dışkı muayenesi yapılarak 56 sığırın dışkısı

örneklenmiştir. 35 sığırdan 1, 12 sığırdan 2, 7 sığırdan 3, 1 sığırdan 4 ve 1 sığırdan da 5 pozitif dışkı örneği elde edilmiştir. 56 sığırın 35'inde (%63) 1 aydan az süre içinde *E.coli O157:H7* atılımında süreklilik olduğu gözlenmiştir (Besser ve ark., 1997).

Yüzey swab yöntemi ile 750 sığır karkasında *E.coli O157:H7* analizi yapılan bir çalışmada etkene karkas örneklerinin hiç birinde rastlanmamıştır (Calicchia ve ark., 1997).

Çeşitli çiftlik hayvanlarında *E.coli O157*'nin varlığına yönelik bir araştırmada örneklenen 4800 sığırın 752'sinden (%15,7), 1000 koyunun 22'sinden (%2.2), 1000 domuzun 4'ünden (%0.4) etken izole edilmiş ancak 1000 kanatlının hiç birinde etkenin tespit edilmediği bildirilmiştir. Rektal dışkı örnekleri alınan sığırların 1840'ı (%38.4) et sığırı, 1661'i (%34.6) süt sığırı ve 1299'u (%27) türü belirtilmemiş hayvanlar olup etken, 1840 etçi sığırın 246'sından (%13.3) ve 1661 sütçü sığırın 268'inden izole edilmiştir. Etkenin aylık prevalansının sığırlarda %4.8-36.8 ve bahar ve yaz sonunda daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Koyunlardan ve sığırlardan izole edilen tüm *E.coli O157* izolatlarının verositotoksijenik ve insanlarda enfeksiyona neden olan suş tiplerinden olduğu ifade edilmiştir (Chapman ve ark., 1997).

Bir başka çalışmada ise, 13 bölgede 100 çiftlikteki besi sığırından dışkı örnekleri toplanarak *E.coli O157* yönüyle ve izolatlar verotoksin üreten genetik kod yönüyle de analiz edilmiştir. Alınan 398 örnekten 101'inde (%25.4) etkene rastlandığı ve 100 çiftliğin 63'ünden etkenin identifiye edildiği belirtilmiştir (Dargatz ve ark., 1997).

Besi sığırlarında *E.coli O157*'nin epidemiyolojisi üzerine yapılan bir çalışmada, *E.coli O157* ile ilgili çoğu epidemiyolojik çalışmaların süt sığırlarına yönelik olduğu ancak et sığırlarında yapılan örneklemelerin sınırlı kaldığı belirtilmektedir. Çalışmada, 13 eyaletten 100 sığırdan fekal örnekler *E.coli O157* yönüyle bakteriyolojik olarak kültüre edilmiş, 11.881 dışkı örneğinin 210'undan (%1.8) etken izole edilmiştir. Test edilen 100 sığırın 63'ünde 1 veya daha fazla örnek *E.coli O157* yönünden pozitif bulunmuştur. Sığırların %63'ünden *E.coli O157*, %61'inden *E.coli O157:H7* izole

edilmiş ve etkenin besi sığırları içinde de geniş orandaki yaygınlığına dikkat çekilmiştir (Hancock ve ark., 1997).

Yapılan bir çalışmada ise potansiyel bir insan patojeni olan *E.coli O157:H7*'yi de içeren çeşitli shiga toksin üreten *E.coli* suşlarının koyunlar tarafından geçici olarak dışkılarıyla atıldığı belirtilmiş, 16 aylık iki yaz ve iki sonbahar içeren periyotta bir koyun sürüsü *E.coli O157:H7* yönüyle incelenmiş ve etkenin sadece yaz aylarında dışkıda pozitif olduğu gözlenmiştir (Kudva ve ark., 1997).

Ankara'daki askeri birliklerin ihtiyacı için alınan sığır etlerinin mikrobiyolojik kaliteleri üzerine yapılan bir çalışmada örneklenen karkasların hepsinde koliform bakteri tespit edildiği ve miktarlarının 1.2×10^3 - 1.6×10^5 kob/g (ortalama 1.2×10^4 kob/g) ve *E.coli* miktarının ise 7.2×10^2 - 9.6×10^4 kob/g düzeyinde bulunduğu belirtilmiştir. Fekal kontaminasyonun bir göstergesi olarak önem taşıyan bu mikroorganizmalar ile karkasın bu derece kontamine olmasının; kesim, taşıma ve parçalama işlemleri sırasında hijyen kurallarına yeterince uyulmamasından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir (Nursoy ve Akgün, 1997).

Idaho, Oregon ve Washington eyaletlerinde çiftlik ve mezbahalardaki sürülerden fekal swab örnekleri *E.coli O157* yönüyle test edilmiştir. 19 sürüden toplam 205 çiftlik orijinli sığırdan 7 tanesi (%3.4), 15 süt sığırı sürüsünden toplam 103 mezbaha orijinli örnekten 4 tane (%3.9) pozitif bulunmuştur. Hem çiftlikten hem de mezbahadan örneklenen 89 sığırdan 2 tanesinde (%2.2) her ikisi de pozitif, 3 tanesi (%3.3) sadece çiftlikte, 2 tanesi (%2.2) de sadece mezbahada pozitif bulunmuştur. Meradan kesime giden 89 sığırdan 7'si en az bir bölgede pozitif bulunmuştur. Bu çalışma süt sığırlarında *E.coli O157* prevalansının diğer yaş ve sınıftaki sığırlara oranla daha yüksek olduğunu öne sürmektedir (Rice ve ark. 1997).

İngiltere'de verositotoksin üreten *E.coli O157:H7*'nin sığır dışkısında bulunma ve kesim sonrasında karkaslara bulaşma boyutunun değerlendirildiği bir çalışmada analiz edilen 4067 doku örneğinin 19'u (%0.47), 6495 fekal örneğin 54'ünde (%0.83) pozitif bulunmuştur. Aynı günlerde belirli mezbahalarda benzer sonuçların alınmasının

çapraz kontaminasyon varlığını işaret ettiği ve enfeksiyon, mevsim veya sürü tipi (süt veya et) arasında bir bağlantı saptanmadığı belirtilmektedir (Richards ve ark, 1998).

E.coli O157:H7'nin çiftlikten mezbahaya ve et satış yerlerine geçişindeki oluşturduğu riskin değerlendirdiği bir çalışmada da çiftlikteki patojenlerin kirli deriden karkasa transferinin önlenmesinde HACCP prensiplerinin önemi vurgulanmıştır. Çalışmada toplanan et örneklerinin %3.6'sının *E.coli O157:H7* ile kontamine bulunduğu ve izolatların da her iki verotoksini kodlayan genlere sahip olduğu belirtilmiştir (Bolton ve ark., 1999).

Yapılan bir başka çalışmada ise karkastan temizleme, derinin çıkarılması, iç organların çıkarılması, karkasın ayrılması, karkasın yıkanması ve soğutma aşamalarından örnekler toplanmış, toplam bakteri, *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae*, *E.coli O157:H7* ve *Listeria* türleri araştırılmıştır. Karkasın yıkanmasının bakteriyel kontaminasyonun azaltılmasında etkisiz olduğu ve ayrıca karkasın yıkanmasının *E.coli O157:H7*'yi elimine etmediği tespit edilmiştir. Sığır karkaslarında bulunan *E.coli O157:H7*'nin kesim sırasındaki transferinin diğer bakterilere nazaran daha geniş bir yayılım gösterdiği belirtilmiştir (Doherty ve ark, 1999).

Antibiyotiğe dirençli, toksijenik olmayan *E.coli O157:H7* suşunun taze sığır dışkısına inokule edilip 30 düvenin but bölgesine sürülerek 24 saat kurumaya bırakılması şeklinde uygulanan bir çalışmada daha sonra sığırlardan 10 tanesi herhangi bir işlem uygulanmaksızın normal kesim prosesine dahil edilmiş, kalan sığırların 10 tanesi 1 dakika, diğer 10 tanesi ise 3 dakika kesim öncesi basınçlı su ile yıkanmıştır. Her iki yıkama uygulamasında da deri üzerinde görülür dışkı materyali kalmamasına karşın, sadece 3 dakika yıkanan sığırların derilerinde kayda değer bir azalma ($P < 0.05$) gözlenmiştir. Kesim sonrası karkaslar, bıçaklar ve kesim yapan işçilerin elleri *E.coli O157:H7* yönüyle değerlendirilmiş ve kesim öncesi 3 dakikalık yıkama ile kesim sırasında deriden karkasa bulaşan *E.coli O157:H7*'nin miktarında istatistiksel olarak bir azalma olmadığı görülmüştür. Bununla beraber örneklenen dört karkas bölgesinin üçünde etken tespit edilememiştir. Bu sonucun da kesim öncesi yıkama uygulamasının

kesim öncesi derinin dekontaminasyonunda elverişli bir metot olabileceğini gösterdiği belirtilmiştir (Byrne ve ark., 2000).

Proses süresince kesim sığırlarının karkas, deri ve dışısında *E.coli O157* prevalans ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, örneklenen 29 grubun %72'sinin en az bir EHEC-O157 pozitif fekal örneği ve %38'inin ise pozitif deri örneklerini içerdiği ve EHEC-O157'nin dışkı ve derideki prevalansının sırasıyla %28 (327 örneğin 91'i pozitif) ve %11 (355 örneğin 38'i pozitif) bulunduğu belirtilmiştir. Karkas örneklerinin proses boyunca; iç organları çıkarılmasından önce, iç organların çıkarılmasından sonra antimikrobiyal uygulama öncesi ve soğutucuya girmiş karkaslarda proses sonrası olmak üzere 3 noktadan alındığı ve örneklenen 30 grubun %87'sinin iç organların çıkarılması öncesi en az bir EHEC-O157 pozitif, %57'sinin iç organların çıkarılması sonrası pozitif, ve %17'sinin de proses sonrası örneklerde pozitif olduğu bildirilmiştir. Fekal ve deri prevalansı, karkas kontaminasyonu ile belirgin bir şekilde ($P= 0.001$) ilişkili bulunmuş ve bu durumun canlı sığırdaki EHEC O157'nin kontrolünde önemli olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada fekal, deri ve karkas prevalansının geçmişte EHEC O157 izolasyon metotlarının yetersizliğinden dolayı proses boyunca tahmin edilenin altında çıkabildiği ifade edilmiş, proses basamaklarında olası karkas kontaminasyonu ile oluşabilecek gıda kaynaklı hastalık risklerinin azaltılmasında HACCP planlarının kullanılması gerekliliği vurgulanmıştır (Elder ve ark. 2000).

Amerika'da yapılan bir çalışmada da sığırlarda ve karkaslarda *E.coli O157:H7* prevalansının tahmin edilenden daha yüksek olduğu ve proses öncesi uygulanan işlem basamakları ile karkas kontaminasyonu arasında bir korelasyon olduğuna dikkat çekilmiştir. Bu çalışmada sadece et değil, sığır dışkı materyali ile temas etmiş su örneklerinin ve diğer gıdaların da daha düşük düzeylerde kontamine oldukları tespit edilmiştir (Gansheroff ve O'brien, 2000).

Karkas parçalama prosesi süresince toplanan artıkların *E.coli* ile kontaminasyonunun incelendiği bir çalışmada geri alınan total aerobik bakteri, koliform ve *E.coli*'nin log miktarının sırasıyla 1, >3 ve >3 bulunduğu ve bu miktarların karkasın parçalama ünitesine girişinde analiz edilen miktarlardan daha fazla olduğu, ayrıca bu 3

tip bakterilerin miktarlarının birbirini izleyen işleme basamaklarında artışa meyilli olduğu belirtilmektedir. Aerob bakterilerin en çok temizlenmiş ekipmanlardaki su birikintilerinden, temizlenme sonrası çelik ağ eldivenlerden ve ekipmanlarda kalan tortulardan; koliformların en çok çelik ağ eldiven ve et örneklerinden; *E.coli*'nin ise eldiven ve tortu örneklerinden geri alındığı ifade edilmiştir. Bu bulguların parçalanma prosesine giren karkasın belli bölgelerde *E.coli* ile büyük oranda sporadik olarak kontamine olabileceği ve ilaveten temizlenmiş ekipmandan da ürüne kontaminasyonun olabileceğini gösterdiği öne sürülmektedir (Gill ve McGinnis, 2000).

Mezbahalardan alınan düve fekal örneklerinde *E.coli O157:H7*'nin analizinin yapıldığı bir çalışmada 30 örneğin 3'ünden (%1) etken izole edilmiştir (Vernozy-Rozand ve ark., 2000).

Kuzey İtalya kesimhanelerinde süt ve et sığırlarında verositotoksin üreten *E.coli O157*'nin fekal taşıyıcılığı ve karkas kontaminasyon oranının değerlendirildiği bir çalışmada, Nisan 1998-Ocak 1999 tarihleri arasında 7 farklı mezbaha ziyaret edilerek kesimden hemen sonra rektal swablar, bacak bölgesi ve diyafram bağlantısından da karkas swabları alınmıştır. Analiz edilen 100 hayvanın barsak içeriklerinin 17'sinden ve karkas örneklerinin 12'sinden VTEC O157 izole edildiği bildirilmiştir. Pozitif bulunan karkas ve dışkı örneklerinin Haziran ayında 3 farklı mezbahaya yapılan 3 ziyarette alındığı ve bu hayvanların dışkıda VTEC O157 taşıyıcılığı yüzdesi ile kontamine karkas yüzdesi arasındaki oranların sırasıyla 0.33, 0.57, 1.66 olduğu belirtilerek bu sonuçların da kesim uygulamalarında karkas kontaminasyonunun yüksek olabileceğini doğruladığı vurgulanmıştır (Bonardi ve ark, 2001).

Yapılan bir çalışmada da mezbahada sığır ve koyunlardan alınan rektal örneklere, 1500 sığır ve 1500 koyun karkaslarına ve kasaplardan elde edilen çiğ sığır ve koyun et ürünlerine 1 yıl boyunca *E.coli O157* analiz yapılmıştır. 4800 sığır rektal örneğinin 620'sinden (%12.9), 7200 koyun rektal örneğinin 100'ünden (%7.4), 1500 sığır karkasının 21'inden, 1500 koyun karkasının 10'undan ve 4983 çiğ et ürününün de 22'sinden *E.coli O157* izole edilmiştir. Çalışmada, etkenin sığır ürünlerine kıyasla

koyun ürünlerinde daha sıklıkla izole edildiği, et ürünlerinde Temmuz-Ağustos aylarında yapılan mevsimsel *E.coli* sayımlarının koyun ürünlerinde sığırlara göre daha yüksek olduğu ve rektal, karkas ve et örneklerinden *E.coli* O157 izolasyonunun büyük oranda yaz dönemi boyunca gerçekleştiği belirtilmiştir (Chapman ve ark., 2001).

Kuzey İtalya'da düve yetiştirme çiftliğinde yapılan survey çalışmasında iki farklı gruptaki hayvanlardan alınan rektal swabların analizi ile çiftlikteki *E.coli* O157 yayılımı incelenmiş ve birinci gruptaki 30 sütçü sürünün 6'sından ve ikinci gruptaki 2.5-7.5 aylık genç hayvanlardan alınan 1293 rektal örneğin 138'inden (%10.7) etken izole edilmiştir. *E.coli* O157'nin ayrıca 16 yataklık örneğinin 6'sından, 2 çamur örneğinin 2'sinden ve 5 su örneğinin 1'inden izole edildiği belirtilmiştir (Conedera ve ark., 2001).

Karkasın parçalanma sırasında *E.coli* ile kontaminasyonunun belirlenmesine yönelik yapılan araştırmada örnekler, sürtme metodu ile parçalanma prosesine giren ilk 500 parçanın dış yüzeyinden alınmış ve koliform ve *E.coli* sayıları belirlenmiştir. Parçalardan izole edilen koliform ve *E.coli*'nin toplam log değerleri > 6.0 ve 5.5 log kob/500 parça şeklinde tespit edilmiştir. Ayrıca karkasların parçalanması sırasında askı ve taşıma bandından da sürtme metodu ile örnek alınarak *E.coli* ve koliform yönünden değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular koliform ve *E.coli*'nin çoğunun karkas orijinli olmayıp büyük ölçüde taşıma ekipmanlarından kaynaklandığını göstermiştir (Gill ve ark., 2001).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada Ocak 2000 - Ağustos 2000 tarihleri arasında özel bir mezbaha 7 kez ziyaret edilerek tesadüfi örnekleme metodu ile sığırların yarısından örnekler alınmış ve 22 dişi ve 53 erkek sığır örneklenmiştir. Bakteriyolojik kültür için alınan örnekler fekal swablar, karkaslar, su ve çevresel örnekler (bıçaklar, testereler, eller, giysiler, sıralar, yüzeyler) olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Alınan sonuçlarda fekal swablardan sadece birinde seropozitif O157:H7, bıçaklardan alınan örneklerin sadece birinde ve kıyafetlerden alınan örneklerin de sadece birinde *E.coli* O157:H7 seropozitif bulunmuştur. Çalışmada, karkasın ve personelin kontaminasyonunda muhtemel risk olarak görülen bıçaklardan ve çalışanların

giysilerinden *E.coli O157:H7* izole edilmesinin, mezbahada önleyici ölçümlerin ve HACCP uygulamalarının önemini ortaya koyduğu belirtilmiştir. *E.coli O157:H7*'nin Türkiye'deki mezbahalarda dışkı, bıçak ve kasapların giysilerinden izolasyonunun, insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyonun ve kontaminasyonun kontrolünde uygun tarama ve önlemlerin alınması gerekliliğini gösterdiği vurgulanmıştır (Gün ve ark., 2001).

O157 VTEC enfeksiyonlarının kontrolünde karkasların fekal kontaminasyonu için yapılan sıfır tolerans çalışmasında mezbahalardaki hijyenik performans gözlenmiş ve karkasın görsel ve mikrobiyolojik (aerobik toplam bakteri, *Enterobacteriaceae* sayısı ve O157 VTEC varlığı veya yokluğu, sığır karkaslarında görsel temizlik) temizliği belirlenmiştir. Gözlemlenen mezbahaların %52'sinde karkasların deri, kıl veya dışkı ile kontamine olduğu, %45'inde karkasın direkt (karkastan – karkasa) veya indirekt (yer, duvar, basamak) olarak çapraz kontaminasyonu belirlenmiş ve %39'unda temizlik ve hijyende yetersizlik tespit edilmiştir. Gezilen 27 mezbahanın 11'inde soğutulmuş karkasların %10'dan fazlasında, 6 mezbahada ise %50'den fazlasında görünür şekilde kontaminasyon saptanmıştır. O157 VTEC suşunun izole edilmediği çalışmada, bu bulguların mezbaha personeli ve et muayene yönteminin iyi hijyen uygulamalarını gerektirdiğini gösterdiği vurgulanmıştır (Heuvelink ve ark., 2001).

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Örneklerin Toplanması:

Yapılan çalışmada örnekler, Nisan-Temmuz 2002 tarihleri arasında Çanakkale'nin Ezine, Biga ve Merkez mezbahalarında yapılan kesimlerde tesadüfi örnekleme metodu ile 25'i dişi, 17'si erkek toplam 42 sığırın kesimden hemen sonra rektumundan, karkasın parçalanmasının ardından but, karın, göğüs bölgelerinden ve hayvanın derisinden alınmıştır. İlaveten 10 adet koyun karkasının ise but, karın ve göğüs bölgeleri örneklenmiştir. Koyun karkaslarının örneklenmesi Nisan ayına, sığır karkaslarının örneklenmesi ise genellikle Mayıs ve Temmuz aylarına rastlamıştır. Ayrıca bıçaklar, işçilerin el ve kıyafetleri, balta, sulardan da örnekler alınmıştır. Örnekler, steril pamuk swablar kullanılarak yüzeyden sürtme yöntemi ile alınmıştır.

Koliform ve *E.coli* analizleri için karkas, deri ve çevresel örneklerin 100 cm²'lik alanlarından alınan swablar, %0.1'lik peptonlu su içeren deney tüplerine aktarılmıştır. *E.coli* O157:H7 analizi için ise, kesimden hemen sonra rektumdan alınan dışkı swab örnekleri, deriden ve karkastan alınan örnekler, novobiocin'li modifiye EC broth içeren deney tüplerine aktarılarak 4°C'lik ortamda laboratuara ulaştırılmıştır. Alınan su örnekleri, 2lt'lik steril şişelere aktarılarak 6 saat içinde analize alınmıştır.

4.2. Kullanılan Malzeme ve Ekipmanlar

4.2.1. Besiyerleri

Cefixime-Tellurite içeren Sorbitol Mac Conkey Agar (CT - SMAC) :

E.coli O157:H7'nin mikrobiyolojik analizi için seçici ve ayırıcı besiyeri aşağıda formülize edilen, Sorbitol Mac Conkey agar, (SMAC- MERCK 1,09207) cefixime- tellurite (OXOID- SR 172E) antibiyotik katkısı yapılarak kullanılmıştır.

CT-SMAC Agar Besiyerinin Hazırlanması:

25.8 g SMAC besiyeri 500 ml distile su içinde çözündürüldü. Tamamen çözününceye kadar su banyosunda kaynatıldı. 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Sterilizasyon sonunda 45-50°C'ye kadar soğutularak içine 2 ml steril distile su içinde aseptik olarak çözündürülen cefixime – tellurite antibiyotik katkısı yapıp karıştırıldı ve steril petrilere döküldü. Besiyerinin katılaşmasını takiben yüzeyi kurutuldu. Kullanıma hazır hale getirildi.

karıştırıldı ve steril petrilere döküldü. Besiyerinin katılaşmasını takiben yüzeyi kurutuldu. Kullanıma hazır hale getirildi.

MUG'lu Violet Red Bile Agar (VRBA) :

Koliform grubu bakterilerin ve ayrıca UV ışığı altında floresans verme özelliğindeki *E.coli* kolonilerinin tespiti için MUG (4-methylumbelliferyl β -D-glucuronide) katkılı Violet Red Bile agar (VRBA-OXOID-CM 978) kullanıldı.

MUG'lu VRBA Besiyerinin Hazırlanması:

38.6 g besiyeri 1 litre distile su içinde çözündürüldü. Tamamen çözününceye kadar su banyosunda kaynatıldı. 45-50°C'ye kadar soğutulurak dökme plak yöntemi için hazır hale getirildi.

Novobiocin'li modifiye EC Broth:

E.coli O157:H7 analizinde örneklerin zenginleştirilmesi amacıyla Novobiocin içeren modifiye EC broth (MERCK-1.14582) kullanıldı. Örnekler 41°C'de 18-24 saat zenginleştirildi.

Novobiocin'li mEC brotun hazırlanması:

36.7 g besiyeri, 1 lt distile su içinde çözündürüldü. Deney tüplerine 10'ar ml dağıtıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika steril edildi.

Pepton Broth:

Koliform ve *E.coli* analizleri yapılmak üzere alınan swab örneklerinin alındığı taşıma besiyeri olarak ve ayrıca dilüsyon işlemlerinin yapılması amacıyla kullanıldı.

Pepton broth'un hazırlanması:

1 g besiyeri 1 litre distile su içinde çözüldü. Deney tüplerine 10'ar ml aktarıldı. 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edildi.

İndol broth:

MUG içeren VRB agarda gelişen *E.coli* şüpheli floresan pozitif kolonilerin doğrulamasının yapılması amacıyla kullanıldı. Şüpheli koloniler indol besiyeri içeren

tüplere inokule edilerek 35°C'de 24 saat inkübe edildi. Üzerine 1 ml Kovacs ayırıcı ilave edilerek oluşan kırmızı renk pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi.

4.2.2. Diğer malzeme, alet ve ekipmanlar:

Çalışmada *E.coli O157:H7* analizinde CT-SMAC agarda üremiş sorbitol negatif kolonilerin serolojik olarak doğrulanması için Singlepath *E.coli O157:H7* GLISA (MERCK- 104141.0001) testi kullanıldı. CT-SMAC agarda üreyen sorbitol negatif 10 koloni toplanarak 0.2 ml distile su içinde homojenize edildi. Oluşan bu karışımdan kitin üzerindeki yuvarlak bölgeye 3 tam damla olmak üzere damlatıldı. 20 dk. sonunda oluşan biri kalın, diğeri ince iki bant pozitif, bir ince bant ise negatif olarak kabul edildi.

Çalışmada kullanılan cam malzeme ve ekipmanların başlıcaları, öze, tüp sporu, beher, mezur, pipet, petri, Drigalski spatülü, deney tüpü, steril pamuklu swab, otoklav, etüv, Bain-Mari, distile su cihazı, hassas terazi, UV lambası, soğutucu, eldiven olarak sıralanabilir.

4.3. İzolasyon ve İdentifikasyon:

4.3.1. Koliform ve *E.coli* Analizi:

Karkaslardan, derilerden, bıçaklardan, işçi el ve kıyafetlerinden, baltalardan 10 ml %0.1 peptonlu su içine alınan swab örneklerinden 10², 10³, 10⁴... seri seyreltimler yapılarak her seyreltimden paralelli olarak steril petrilere 1'er ml aktarıldı. Üzerlerine 48°C'ye kadar soğutulmuş MUG (4-Methyl-Umbelliferyl-β-D-Glucuronide) içeren VRB (Violet-Red-Bile) agar 10 ml olacak şekilde döküldü. Örnek ve besi ortamının petrilere uygulanan çevirme ve salınım hareketleri ile karışmaları sağlandı. Karışımın katışması için 5-10 dakika beklendi ardından yüzeyde koloni oluşumunu önlemek ve katılaştırılmış yüzeyi tamamen kaplamak üzere 5 ml VRB agar eklendi. Agarlar katılaştıktan sonra ters çevrilen petrilere 35-37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Üreme görülen petrilere 0.5 mm veya daha büyük, koyu ve çevrelerinde kırmızı zon bulunan tipik koloniler koliform olarak değerlendirildi. Sayım için 15-150 arasında koloni içeren petrilere dikkate alınarak koliform bakteri sayısı belirlendi. *E.coli* kolonilerinin tespiti ise MUG içeren besiyerinde ürediklerinde 366 nm uzun dalga boylu UV ışık altında floresan verme özelliğinden yararlanılarak floresan özellik gösteren

kolonilerin belirlenmesi ve sayılması şeklinde yapıldı. Floresan veren kolonilere Kovac's ayırıcı damlatılarak indol testi yapılmış ve floresan ve indol pozitif koloniler *E.coli* olarak değerlendirilmiştir. (Bacteriological Analytical Manual 1995; Çakır, 1999).

Karkas, deri ve çevresel örneklerde tespit edilen *E.coli* ve koliform bakterilerin cm^2 'de koloni oluşturan birim (kob/ cm^2) olarak miktarları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Baumgart, 1993).

$$\bar{c} = \frac{\sum c}{1.n_1 + 0,1.n_2} . d$$

\bar{c} : Aritmetik ortalama değer

$\sum c$: Bütün petri kaplarındaki toplam değer

n_1 : En düşük seyreltme alanı sayısı

n_2 : Bir üst seyreltmedeki alan sayısı

d : Dilüsyonun ters logaritması

4.3.2. *E.coli* O157:H7'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu:

Rektum, karkas, deri, bıçak, işçilerin el ve kıyafetlerinden alınan swab örnekleri 10 ml, 20mg/ml novobiocin içeren modifiye *Escherichia coli* broth (mEC) besiyerine aktarılarak $41.5 \pm 0.5^\circ C$ 'de 18-24 saat inkübe edildi (Gün ve ark., 2001).

Selektif zenginleştirmenin ardından her bir tüpten seri seyreltimler yapılarak her bir seyreltimden 0.1 ml, önceden hazırlanıp petrilere dökülmüş 0.05mg/l cefixime ve 2.5 mg/l tellutite içeren Sorbitol MacConkey Agar (CT-SMAC) besiyerine yayıldı ve 18-24 saat $37 \pm 1^\circ C$ 'de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından sorbitol negatif renksiz koloniler şüpheli olarak kabul edildi. Şüpheli koloniler Singlepath *E.coli* O157:H7 doğrulama kitleri kullanılarak *E.coli* O157:H7 olup olmadığı yönünde kontrol edildi (Bacteriological Analytical Manual, 1995; Gün ve ark., 2001).

Alınan su örneklerindeki koliform , *E.coli* ve *E.coli* O157:H7 analizleri Bacteriological Analytical Manual (1995)'da önerilen analiz yöntemlerine göre yapıldı.

4.4.İstatistiksel Analiz:

Bir populasyona veya bir örneğe ait X ve Y ile gösterilen iki özelliği arasındaki ilişkinin derecesi, yönü ve istatistik açıdan önemli olup olmadığı korelasyon katsayısı ve korelasyon analizi ile belirlenmektedir. Elde edilen korelasyon katsayısının (r) istatistik açıdan önemli olup olmadığı t-testi yapılmaktadır (Güneş ve Arıkan, 1988).

Çalışmada örneklenen sığırların karkas ve derilerinden alınan örneklerde tespit edilen *E.coli* sayılarının arasında önemli bir ilişki olup olmadığının tespiti için istatistiksel analiz yapılmış, korelasyon katsayısı ve t-değeri tespit edilmiştir.

5. BULGULAR

Çanakkale ilindeki merkez, Ezine ve Biga mezbahalarına yapılan toplam beş ziyaret sonucu 42 sığır ve 10 koyundan koliform mikroorganizma, *E.coli* ve *E.coli* O157:H7 analizi için örnekler alınmıştır. Koliform mikroorganizma ve *E.coli* analizi için sığırların karkas (but, karın ve göğüs bölgelerinden) ve derileri, koyunların karkas (but, karın, göğüs) bölgeleri örneklenmiştir. *E.coli* O157:H7 araştırması için sığır karkas (but, karın ve göğüs bölgelerinden), deri ve rektumdan ve koyun karkas ve rektumundan alınan örnekler analiz edilmiştir. Ayrıca işçi elleri, elbiseleri, kullanılan bıçak, balta ve suları içeren çevresel örnekler, koliform, *E.coli* ve *E.coli* O157:H7 için ayrı ayrı analiz edilmiştir. Analizler sonucunda elde edilen koliform mikroorganizma ve *E.coli* sayıları Çizelge 5.1., 5.2., 5.3., 5.4., 5.5 ve 5.6.'da, saptanan pozitif örnek sayıları ve yüzdeleri ise Çizelge 5.7. ve 5.8.'de verilmiştir.

Çizelge 5.1'de görüldüğü gibi örneklenen sığır karkas ve deri örneklerinden izole edilen koliform mikroorganizma sayıları but bölgesinde ortalama 23.95 kob/cm², karın bölgesinde ortalama 18.95 kob/cm², göğüs bölgesinde ortalama 20.83 kob/cm², ve deride ortalama 46.18 kob/cm² değerlerinde bulunmuştur.

Sığır karkas ve deri örneklerinde tespit edilen *E.coli* sayıları ise Çizelge 5.2.'de gösterilmiştir. Buna göre *E.coli*, but bölgesinde ortalama 23.36 kob/cm², karın bölgesinde ortalama 17.56 kob/cm², göğüs bölgesinde ortalama 19.15 kob/cm², ve deride ortalama 45.11 kob/cm² düzeyinde bulunmuştur.

Sığır karkasları ve derilerinden alınan örneklerde ortalama koliform mikroorganizma ve *E.coli* sayısına ilişkin grafik, Şekil 5.1.'de verilmiştir. Deri ve karkaslardan izole edilen *E.coli* sayıları arasındaki korelasyon katsayısı ($r = 0.72$, $n = 42$) istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P = 0.05$).

Koyunlardan alınan 30 adet karkas örneğinden izole edilen koliform mikroorganizma ve *E.coli* sayıları ise çizelge 5.3. ve 5.4.'de gösterilmiştir. Koyun karkaslarının but bölgesinden ortalama 5.22 kob/cm², karın bölgesinden ortalama 1.02 kob/cm² ve göğüs bölgesinden de ortalama 2.07 kob/cm² düzeyinde koliform

mikroorganizma tespit edilmiştir. Koyun karkas örneklerinin ortalama *E.coli* sayıları ise sırasıyla but bölgesinde 4.7 kob/cm², karın bölgesinde 1.02 kob/cm², göğüs bölgesinde 1.83 kob/cm² düzeyinde bulunmuştur. Şekil 5.2.'de görüldüğü gibi koyun karkaslarında en yoğun mikroorganizma yükünün but bölgesinde olduğu, bunu göğüs bölgesinin takip ettiği belirlenmiştir.

Çizelge 5.5. ve 5.6.'da çevresel örneklerde tespit edilen koliform ve *E.coli* sayıları verilmiştir.

Çizelge 5.7.'de görüldüğü gibi koliform mikroorganizma ve *E.coli* analizi için 168 sığır karkas ve deri örneği, 30 koyun karkas örneği olmak üzere toplam 198 örnek analiz edilmiş, bu örneklerin 97'sinden (%48.98) koliform mikroorganizma, 83'ünden (%41.91) *E.coli* analiz edilmiştir.

Çizelge 5.8.'de görüldüğü gibi koliform mikroorganizma ve *E.coli* yönüyle incelenmek üzere işçi elleri, elbiseleri, kullanılan bıçak, balta ve sulardan alınan toplam 49 çevresel örneğin 23'ünden (%46.93) koliform mikroorganizma, 14'ünden (%28.57) ise *E.coli* izole edilmiştir.

E.coli O157:H7 analizi için sığırın karkas (but, karın ve göğüs bölgeleri), deri ve rektumlarından, koyunların karkas (but, karın ve göğüs bölgeleri) ve rektumlarından, ayrıca işçi el, elbise ve kullanılan bıçak, balta ve sulardan alınarak incelenen toplam 299 örnekten *E.coli* O157:H7 izole edilememiştir.

Çizelge 5.1. Sığır Karkas ve Deri Örneklerinin Koliform Mikroorganizma Sayıları (kob/cm²)

Hayvan No	But	Karın	Göğüs	Deri
1	—	—	—	18.0
2	—	—	—	6.2
3	—	—	—	0.2
4	0.2	—	15.0	—
5	—	—	0.4	12.0
6	0.2	—	—	3.2
7	—	0.2	—	18.0
8	—	—	—	—
9	—	—	—	—
10	—	—	—	2.0
11	—	—	—	11.0
12	33.8	—	—	16.0
13	0.2	—	—	0.4
14	—	—	—	7.0
15	—	—	—	0.9
16	—	0.4	0.2	—
17	—	—	—	—
18	—	—	—	—
19	—	—	—	—
20	2.0	360.0	—	26.0
21	—	13.8	22.0	30.0
22	—	36.0	28.0	124.0
23	32.5	90.0	2.4	320.0
24	10.0	52.0	—	38.0
25	34.0	32.0	22.0	26.0
26	14.0	38.0	12.0	25.0
27	460.0	14.0	24.0	210.0
28	286.0	56.0	300.0	300.0
29	16.0	17.4	42.0	260.0
30	28.0	32.0	310.0	340.0
31	16.0	13.6	36.0	16.0
32	70.0	—	41.0	42.0
33	3.0	29.3	—	34.0
34	—	—	—	—
35	—	—	—	—
36	—	—	—	0.8
37	—	4.8	—	—
38	—	—	—	—
39	—	—	—	26.0
40	—	—	—	—
41	—	—	20.0	25.0
42	—	6.4	—	2.0
Min. - Max.	0-460.0	0-360.0	0-310.0	0-340.0
Ortalama	23.95	18.95	20.83	46.18

Çizelge 5.2. Sığır Karkas ve Deri Örneklerinde *E.coli* Sayıları (kob/cm²)

Hayvan No	But	Karın	Göğüs	Deri
1	—	—	—	18.0
2	—	—	—	2.0
3	—	—	—	0.2
4	—	—	15.0	—
5	—	—	—	12.0
6	—	—	—	—
7	—	—	—	18.0
8	—	—	—	—
9	—	—	—	—
10	—	—	—	—
11	—	—	—	11.0
12	9.8	—	—	16.0
13	—	—	—	0.4
14	—	—	—	7.0
15	—	—	—	0.4
16	—	0.4	—	—
17	—	—	—	—
18	—	—	—	—
19	—	—	—	—
20	2.0	360.0	—	26.0
21	—	4.4	22.0	30.0
22	—	36.0	28.0	124.0
23	32.5	90.0	2.4	320.0
24	10.0	52.0	—	28.0
25	34.0	32.0	22.0	26.0
26	14.0	38.0	12.0	25.0
27	460.0	14.0	24.0	210.0
28	286.0	24.0	230.0	300.0
29	16.0	17.4	42.0	260.0
30	28.0	32.0	310.0	340.0
31	16.0	13.6	36.0	16.0
32	70.0	—	41.0	42.0
33	3.0	12.7	—	34.0
34	—	—	—	—
35	—	—	—	—
36	—	—	—	0.8
37	—	4.8	—	—
38	—	—	—	—
39	—	—	—	26.0
40	—	—	—	—
41	—	—	20.0	—
42	—	6.4	—	2.0
Min. - Max.	0-460.0	0-360.0	0-310.0	0-340.0
Ortalama	23.36	17.56	19.15	45.11

Çizelge 5.3. Koyun Karkas Örneklerinin Koliform Mikroorganizma Sayıları (kob/cm²)

Hayvan No	But	Karın	Göğüs
1	3.6	1.1	0.8
2	—	—	—
3	6.0	2.0	1.3
4	—	—	0.4
5	14.0	—	0.3
6	27.0	5.0	13.0
7	0.4	—	2.5
8	—	—	—
9	1.2	1.7	2.0
10	—	0.4	0.4
Min.- Max.	0-27.0	0-5.0	0-13.0
Ortalama	5.22	1.02	2.07

Çizelge 5.4. Koyun Karkas Örneklerinin *E.coli* sayıları (kob/cm²)

Hayvan No	But	Karın	Göğüs
1	—	1.1	0.8
2	—	—	—
3	6.0	2.0	1.3
4	—	—	0.4
5	14.0	—	0.3
6	27.0	5.0	13.0
7	—	—	2.5
8	—	—	—
9	—	1.7	—
10	—	0.4	—
Min.- Max.	0-27.0	0-5.0	0-13.0
Ortalama	4.7	1.02	1.83

Çizelge 5.5. Çevresel Örneklerin Koliform Mikroorganizma Sayıları

Örnek No	El (kob/cm ²)	Elbise (kob/cm ²)	Bıçak (kob/cm ²)	Balta (kob/cm ²)	Su (kob/ml)
1	—	—	—	0.2	—
2	0.4	—	—	11.4	—
3	1.4	—	—	—	34
4	—	1.0	—	—	—
5	—	—	0.2	—	—
6	—	0.4	1.2	—	—
7	0.4	0.5	—	—	—
8	6.0	—	3.0	—	—
9	1.1	3.0	—	—	—
10	—	—	—	—	—
11	—	2.4	—	—	—
12	6.8	7.1	24.0	—	—
13	—	2.0	11.0	—	—
14	2.2	6.3	—	—	—
15	—	—	—	—	—
16	—	—	—	—	—
Min.-Max.	0-6.8	0-7.1	0-24.0	0-11.4	0-34

Çizelge 5.6. Çevresel Örneklerdeki *E.coli* Sayıları

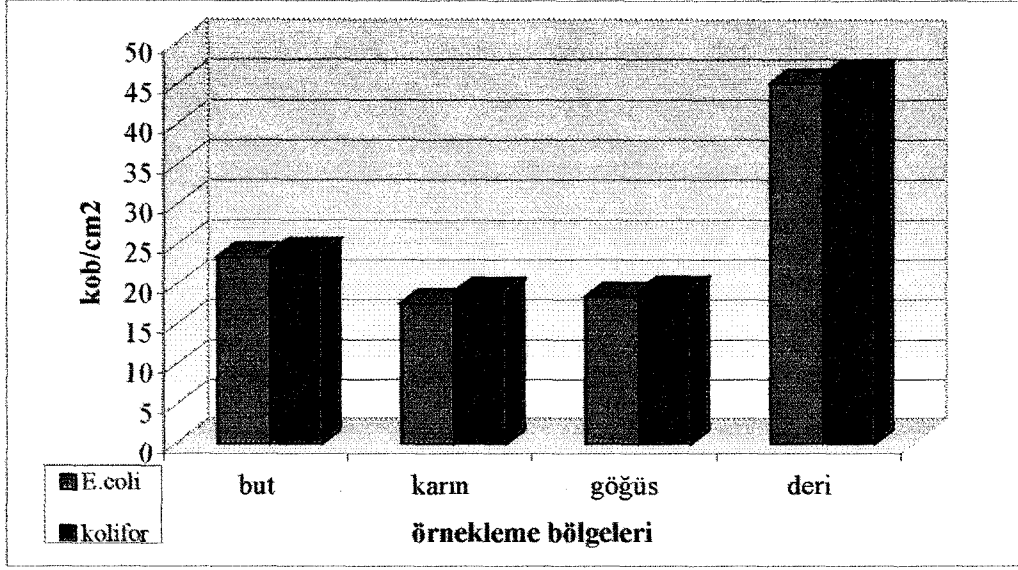
Örnek No	El (kob/cm ²)	Elbise (kob/cm ²)	Bıçak (kob/cm ²)	Balta (kob/cm ²)	Su (kob/ml)
1	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—
5	—	—	0.2	—	—
6	—	0.4	—	—	—
7	0.4	0.5	—	—	—
8	6.0	—	—	—	—
9	1.1	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—
11	—	0.6	—	—	—
12	6.8	7.1	24.0	—	—
13	—	1.0	11.0	—	—
14	2.2	6.3	—	—	—
15	—	—	—	—	—
16	—	—	—	—	—
Min.-Max.	0-6.8	0-7.1	0-24.0	—	—

Çizelge 5.7. *E.coli* ve koliform mikroorganizma yönüyle incelenen koyun ve sığır karkas ve sığır deri örneklerinde saptanan pozitif örnek sayıları ve yüzdeleri

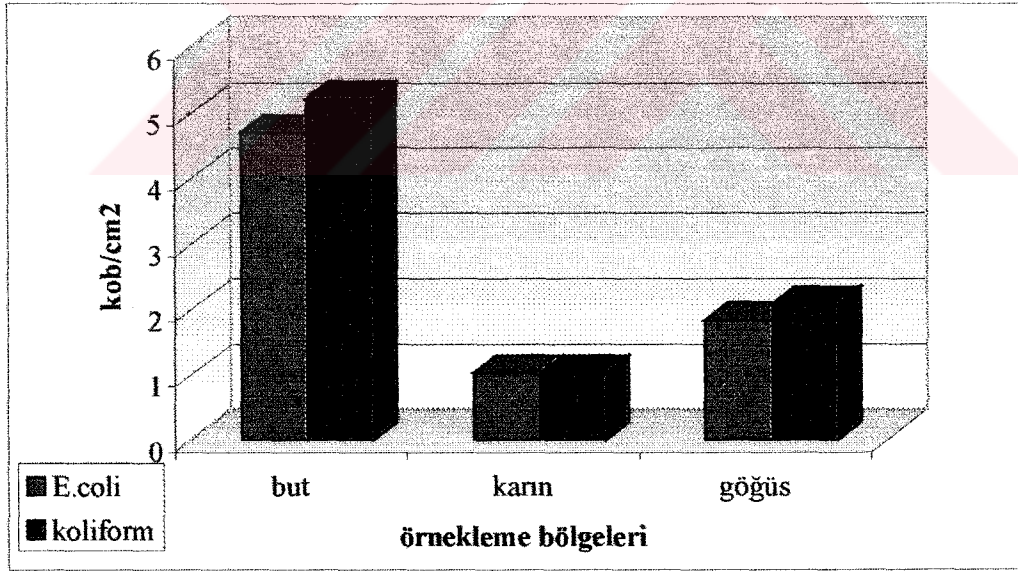
Örneklenen Bölge	Alınan Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı		Pozitif Örnek Oranı (%)	
		Koliform	E.coli	Koliform	E.coli
Sığır but bölgesi	42	16	13	8.08	6.56
Sığır karn bölgesi	42	17	16	8.58	8.08
Sığır göğüs bölgesi	42	15	13	7.57	6.56
Sığır deri bölgesi	42	30	27	15.15	13.63
Koyun but bölgesi	10	6	3	3.03	1.51
Koyun karn bölgesi	10	5	5	2.52	2.52
Koyun göğüs bölgesi	10	8	6	3.03	3.03
TOPLAM	198	97	83	48.98	41.91

Çizelge 5.8. *E.coli* ve koliform mikroorganizma yönüyle incelenen çevresel örneklerde pozitif örnek sayıları ve yüzdeleri

Örneklenen Bölge	Alınan Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı		Pozitif Örnek Oranı (%)	
		Koliform	E.coli	Koliform	E.coli
İşçi eli	14	7	5	14.28	10.20
İşçi elbisesi	9	8	6	16.32	12.24
Bıçak	16	5	3	10.20	6.12
Balta	5	2	0	4.08	0
Su	5	1	0	2.04	0
TOPLAM	49	23	14	46.93	28.57



Şekil 5.1. Sığır karkas ve deri örneklerinde ortalama koliform mikroorganizma ve *E.coli* sayıları



Şekil 5.2. Koyun karkaslarında ortalama koliform mikroorganizma ve *E.coli* sayıları

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Beslenme açısından son derece değerli bir besin maddesi olan et ve ürünleri, sağlıklı hayvanlardan elde edildikleri ve uygun koşullarda işlendikleri takdirde sağlık açısından herhangi bir risk taşımamaktadır. Ancak yetiştirme, kesim ve işleme sırasında gerekli önlemlerin alınmadığı durumlarda mikroorganizmalar ürünlerde kalite kayıplarına ve tüketicilerde önemli sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Anar, 2000).

Mikroorganizmaların ete kontaminasyonu, kasaplık hayvan canlı iken veya hayvanın kesimi sırasında veya sonrasında gerçekleşmektedir (Uğur ve ark., 1997). Mezbaha ve et işletmelerinde kesim, çalışanlar ve kullanılan alet ve ekipmanların hijyenik kalitesinin belirlenmesinde fekal kirliliğin göstergesi olarak koliform grubu mikroorganizmaların ve özellikle *E.coli*'nin varlığı araştırılmaktadır.

Yapılan çalışmada 42 sığırın but, karın ve göğüs bölgelerinden toplam 126 sığır karkas örneği alınarak koliform grubu mikroorganizma ve *E.coli* yönüyle analiz edilmiş, 48'inde (%24,24) koliform grubu mikroorganizma, 42'sinde ise (%21,21) *E.coli* tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, Nursoy ve Akgün (1997) tarafından yapılan bir çalışmada 30 karkas örneğinin incelenmesi sonucu bulunan sonuçlardan düşüktür. Söz konusu çalışmada karkasların 30'unda (%100) koliform grubu mikroorganizma, 12'sinde (%40) ise *E.coli* tespit edildiği bildirilmiştir. Bu bakterilerin karkaslarda bu derece yoğun olmasının, kesim, taşıma ve parçalama işlemleri esnasında hijyen kurallarına yeterince uyulmamasından ve personelin eğitilmemiş olmasından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir.

Amerikan Gıda Güvenliği Muayene Servisi'ne göre, karkasların karın, göğüs ve but bölgelerinin 100 cm²'lik alanından sürtme yöntemi ile alınan örneklerde *E.coli*'nin bulunmaması istenmekle birlikte üst sınır değerinin 100 kob/cm² olduğu belirtilmektedir (FSIS-USDA, 1996). Çizelge 5.2.'de de görüldüğü gibi pozitif bulunan örneklerden 5 (%2,52) tanesinin *E.coli* miktarları, tolere edilebilir sınırların üzerinde bulunmuştur.

Çalışmada, örneklenen sığır karkaslarında koliform mikroorganizma sayıları but bölgesinde 0-460.0 kob/cm² arasında (ortalama 23.95 kob/cm²), karın bölgesinde 0-360.0 kob/cm² arasında (ortalama 18.95 kob/cm²), göğüs bölgesinde 0-310.0 kob/cm² arasında (ortalama 20.83 kob/cm²), karkaslardaki ortalama koliform grubu mikroorganizma sayısı ise 21.24 kob/cm² (1.32 log kob/cm²) bulunmuştur. Gill ve Jones (2000) tarafından yapılan çalışmada 25 sığır karkas örneğinde 0.60-2.29 log kob/cm² düzeyinde koliform grup mikroorganizma tespit edildiği, Jericho ve ark. (1997)'nin yaptıkları çalışmada ise 236 karkas örneğinde 0.23-0.72 log kob/cm² düzeyinde koliform grubu mikroorganizma tespit edildiği bildirilmiştir.

Sığır karkaslarından elde edilen *E.coli* sayıları ise but bölgesinde 0-460.0 kob/cm² arasında (ortalama 23.36 kob/cm²), karın bölgesinde 0-360.0 kob/cm² arasında (ortalama 17.56 kob/cm²), göğüs bölgesinde 0-310.0 kob/cm² arasında (ortalama 19.15 kob/cm²), karkaslardaki ortalama *E.coli* sayısı 20.02 kob/cm² (1.30 log kob/cm²) olarak tespit edilmiştir. Gill ve Jones (2000) tarafından yapılan çalışmada, elde edilen *E.coli* sayılarının 0.60-2.17 log kob/cm² düzeyinde olduğu, Jericho ve ark. (1997)'nin yaptıkları çalışmada 0.20-0.65 log kob/cm² düzeyinde *E.coli* tespit edildiği bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen koliform grup mikroorganizma ve *E.coli* sayılarının Gill ve Jones tarafından ifade edilen veriler ile uyumlu, Jericho ve ark.'nin verilerinden yüksek olduğu görülmüştür.

Dickson ve Anderson'a (1992) göre, sığırlar mezbahaya ulaştıklarında bağırsak içerikleri, deri ve yünlerinden kaynaklanan çok yoğun ve çeşitli mikrofloraya sahiptirler. Dışkı materyali, kir ve çamur içeren deri yüzeyi, kesim sırasında derinin yüzülmesi ile karkasa bulaşmaktadır. Gill ve ark.(1996), derinin ve iç organların çıkarılması sırasında karkasın yoğun şekilde *E.coli* ile kontamine olduğunu ve bu yoğun mikroorganizma yükünün karkasın temizlenmesi ve yıkanması ile azalmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada analiz edilen 42 deri örneğinin 30 (%15.15)'unda ortalama 46.18 kob/cm² düzeyinde koliform mikroorganizma, 27 (%13.63)'sinde ise 45.11 kob/cm² düzeyinde *E.coli* tespit edilmiştir. Bu değerler, Şekil 5.1.'de de görüldüğü gibi karkasın but, deri ve göğüs bölgelerinde tespit edilen ortalama koliform ve *E.coli* değerlerinin yaklaşık iki katıdır. Ayrıca deri ve karkastan izole edilen *E.coli* sayıları

arasındaki korelasyon katsayısı ($r = 0.72$, $n = 42$) istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P = 0.05$). Bu nedenlerle, deride tespit edilen bu yoğun mikroorganizma yükünün karkasın kontaminasyonunda büyük oranda etkili olduğu düşünülmüştür.

Koyun karkaslarından alınan örneklerden elde edilen koliform mikroorganizma sayısı tüm karkasta ortalama 2.77 kob/cm^2 ($0.44 \text{ log kob/cm}^2$), *E. coli* sayısı ise ortalama 2.51 kob/cm^2 ($0.39 \text{ log kob/cm}^2$) olarak tespit edilmiştir. Bu veriler, Biss ve Hathaway (1996) tarafından yapılan çalışmada elde edilen $0.39-2.11 \text{ log kob/cm}^2$ düzeyindeki *E. coli* değerlerinden düşüktür. Eisel ve ark. (1997) tarafında yapılan bir çalışmada karkas yüzeylerinden alınan örneklerden elde edilen koliform ve *E. coli* sayılarının düşük olmasının sebebinin bakterilerin et yüzeyine geri dönüşümsüz olarak tutunmasından kaynaklanabileceği ifade edilmektedir.

Yapılan çalışmada koyun karkaslarındaki koliform ve *E. coli* sayılarının sığır karkaslarına oranla oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun koyun karkaslarının örnekleme zamanının Nisan ayına, sığır karkaslarının örnekleme zamanının ise Temmuz ayına rastlamasından ve ayrıca koyunların derilerinin tulum şeklinde çıkarılmasından dolayı koyun karkaslarına kontaminasyonun daha az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Yapılan çalışmada işçi elleri, elbiseleri, bıçaklar, baltalar ve sulardan oluşan toplam 49 çevresel örnek *E. coli* ve koliform mikroorganizma yönüyle analiz edilmiştir. Ellerden alınan 14 örneğin 7'sinden koliform, 5'inden ise *E. coli* $0-6.8 \text{ kob/cm}^2$ düzeyinde izole edilmiştir. İşçi elbiselerinden alınan 9 örneğin 8'inden koliform, 6'sından ise *E. coli* $0-7.1 \text{ kob/cm}^2$ düzeyinde tespit edilmiştir. 16 bıçaktan alınan örneklerin 5'inden koliform, 3'ünden ise *E. coli* $0-24.0 \text{ kob/cm}^2$ düzeyinde tespit edilmiştir. Koliform grup mikroorganizmaların ve *E. coli*'nin et işleme ekipmanlarında bulunması yetersiz hijyenin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Uğur ve ark., 1996). Mezbaha ve et işletmelerinde çalışan personel, el ve kolları, kullandıkları alet, gereç ve giysileri ile karkası kontamine etmektedirler. Derinin yüzülmesi, iç organların çıkarılması, karkasın parçalanması gibi uygulamalarda kullanılan alet ve gereçlerin hijyenik olarak temiz olmaması, kesim sırasında karkasın, bıçak ve diğer gereçlerle kontaminasyonuna neden olmaktadır (Uğur ve ark., 1997).

E.coli O157:H7, hemorajik kolit, hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura gibi hastalıklara neden olmakta ve diğer *E.coli* suşlarına göre daha önemli bir patojen olarak tanınmaktadır (Doyle, 1991). *E.coli O157:H7*'nin başlıca rezervuarının sığırlar olduğu, doğal ve deneysel olarak enfekte edilen sığırların etkeni düşük düzeylerde uzun süreler dışkıyla atabildikleri ifade edilmektedir. Etkenin, sığır kaynaklı ürünlerin tüketimi ile insanlara geçtiği ve sağlıklı sığırların yaklaşık %1'inin dışkılarından etkenin izole edildiği belirtilmektedir (Dean-Nystrom ve ark., 1997). Kesim ve işleme sırasında etin sığır dışkısı ile teması sonucu bu patojenin gıda zincirine girebildiği, *E.coli O157:H7*'nin düşük enfeksiyon dozundan dolayı insandan insana dışkı-ağız bulaşmasının yetersiz hijyen şartlarında kolaylıkla meydana gelebileceği ifade edilmektedir. (Karch ve ark, 1999). Sığır sindirim sisteminde üreyebilme özelliğinde olduğu belirtilen Enterohemorajik *E.coli*'nin kesim sırasında kolaylıkla ve sağlamca karkas yüzeyine yerleştiği ve elde edilen etin hijyen kalitesinde önemli bir rol oynadığı vurgulanmaktadır. Ayrıca, mezbahalarda kullanılan ekipmanların, kontaminasyonda ilk basamak olduğu ve eğer et kondüsyonu müsait ise sonraki yüzey kolonizasyonlarına sebep olduğu belirtilmektedir. Fekal içerikle kirlenmiş bıçak ve kontamine artık sahalarının kontaminasyonun yayılmasında önemli bir etken olduğu, buna ilaveten çalışanların elleri ile de kontaminasyon riskinin artabildiği vurgulanmaktadır. (Delazari ve ark., 1998).

Yapılan çalışmada Çanakkale ilindeki mezbahalarda, insan sağlığı ve gıda güvenliği açısından oldukça önemli bir bakteri olan *E.coli O157:H7*'nin varlığının araştırılmasına yönelik olarak sığır ve koyunların dışkı, karkas, derilerinden ve ayrıca mezbahalarda çalışan işçilerin elleri, elbiseleri, kesim sırasında kullanılan bıçak, balta ve karkasların yıkanmasında kullanılan sulardan toplanan örnekler, *E.coli O157:H7* yönüyle analiz edilmiş ancak örneklerin hiçbirinde etkene rastlanmamıştır. Karr ve ark. (1996) tarafından yapılan bir çalışmada 3 kesim ve işleme operasyonunda, karkasın göğüs, karın ve but bölgelerinden, yağsız doku ve taşıyıcı yüzeylerinden 40'ar örnek alınmış ve analiz sonucunda örneklerde *E.coli O157:H7* bulunamamıştır. Jericho ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmada da 90 sığır karkas örneği *E.coli O157:H7* yönüyle analiz edilmiş ancak etken izole edilememiştir. Calicchia ve ark. (1997) yüzey swab yöntemi ile 750 sığır karkasında *E.coli O157:H7* analizi yapmalarına karşın etkene

karkas örneklerinin hiç birinde rastlamadıklarını bildirilmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen bulguların yapılan diğer çalışmalarla da uyumlu olduğu görülmüştür.

Alınan örneklerden etkenin izole edilememesinin, incelenen hayvanların *E.coli* O157:H7'yi taşımamalarından, kullanılan örnekleme veya izolasyon metodundan dolayı yoğun refakatçi flora varlığına bağlı olarak sahte negatif sonuçlardan kaynaklandığı düşünülmüştür. Noveir ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada, *E.coli* Tip I, *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii* tarafından oluşturulan yoğun rekabetçi flora ortamında *E.coli* O157:H7'nin izolasyonunun oldukça güç olduğunu belirtmişlerdir.

Türkiye mezbahalarında yapılan bir çalışmada tesadüfi örnekleme metodu ile 75 sığırdan, fekal swab ve karkas örnekleri alınmış ayrıca bıçaklar, testereler, eller, giysiler, sıralar, yüzeyler ve sular da örneklenmiştir. Alınan sonuçlarda fekal swablardan sadece birinde, bıçaklardan alınan örneklerin sadece birinde ve kıyafetlerden alınan örneklerin de sadece birinde *E.coli* O157:H7 bulunmuştur. Bu sonuçların, Türkiye'deki mezbahalarda enfeksiyonların önlenmesinde ve kontaminasyonun kontrolünde uygun izleme ve önleme yöntemlerinin geliştirilmesi gerekliliğine dikkat çektiği belirtilmiştir (Gün ve ark., 2001).

Yapılan çalışmada rektum, karkas, deri ve çevresel örneklerde *E.coli* O157:H7'nin izole edilememiş olması Çanakkale mezbahalarında örneklenen sığır ve koyunlardan elde edilen et ve et ürünlerinin bu patojen yönüyle güvenli olduğunu göstermektedir. Ancak, özellikle karkaslardan alınan örneklerdeki yoğun *E.coli* ve koliform mikroorganizma yükü ve işçi elleri, elbiseleri ve bıçaklardan *E.coli* izole edilmesi, mezbahalarda yapılan kesimlerde hijyenik yönden yetersizlik olduğuna işaret etmekte ve dolayısıyla buradan elde edilen et ve et ürünlerin güvenilirliği ve insan sağlığı için risk oluşturmaktadır. Jericho ve ark.(1996), fekal kontaminasyonun direkt göstergesi olan *E.coli* sayısının HACCP sistemlerinin oluşturulmasında kullanılan önemli kriterlerden olduğunu belirtmektedir. Kritik Kontrol Noktaları'nda *E.coli*'nin kontrolünün yapılmasının, diğer spesifik patojenlerin kontrolünün yapılmasını da sağladığı ifade edilmiştir.

Bu çalışmada sonuç olarak, kesim öncesinde, kesim sırasında ve sonrasında deriden, karkasa mikrobiyal kontaminasyonun önlenmesini, çalışanların, kullanılan alet ve ekipmanların hijyenik düzeylerinin artırılmasını sağlayacak tedbirlerin alınmasında iyi üretim uygulamaları (GMP) ve HACCP prensiplerinin benimsenmesi gerektiği düşünülmektedir.



7. ÖZET

Besin değeri oldukça yüksek olan et ve et ürünlerinin elde edilmesi sırasında, kesim ve işleme prosesinde gerekli önlemlerin alınmadığı durumlarda mikroorganizmalar ürünlerde kalite kayıplarına ve tüketicilerde önemli sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Mezbaha ve et işletmelerinde kesim, çalışanlar ve kullanılan alet ve ekipmanların hijyen kalitesinin belirlenmesinde fekal kirliliğin göstergesi olarak koliform grubu mikroorganizmaların ve özellikle *E.coli*'nin varlığı araştırılmaktadır. Son yıllarda dünya çapında ciddi salgınlar oluşturan ve ölüme kadar varabilen rahatsızlıklara yol açan Enterohemorrajik *E.coli* (*E.coli* O157:H7)'nin başlıca rezervuarı olarak sığırlar gösterilmekte, etken kesim sırasında dışkıdan karkasa bulaşarak sığır kaynaklı hayvansal ürünleri kontamine edebilmektedir. Bu nedenlerle bu çalışmada, Çanakkale ilindeki mezbahalarda karkası kontamine etme riski taşıyan çeşitli noktalardan alınan numunelerde mezbaha hijyeninin göstergesi olarak koliform mikroorganizma ve *E.coli* sayısının yanında sığır kaynaklı ürünlerin tüketimiyle insanlar için risk oluşturan *E.coli* O157:H7'nin varlığı araştırılmıştır.

Bu çalışmada, Çanakkale iline bağlı 3 ayrı mezbahada (Merkez, Ezine, Biga) kesilen büyükbaş ve küçükbaş hayvanlardan tesadüfi olarak seçilen toplam 42 sığır ve 10 koyundan kesim sırasında ve sonrasında örnekler alınmıştır. Çalışmada koliform grubu mikroorganizma ve *E.coli* analizi için sığırların karkas (but, karın, göğüs) ve deri, koyunların karkas (but, karın, göğüs) bölgelerinden örnekler alınmıştır. *E.coli* O157:H7 araştırması için ise sığırlar karkas (but, karın, göğüs), deri ve rektum, koyunlar ise karkas (but, karın, göğüs) ve rektum bölgelerinden örneklenmiştir. Ayrıca kesim yapılan mezbahalarda işçi elleri, elbiseleri, kullanılan bıçak, balta, su gibi çevresel kontaminasyon göstergesi olan noktalardan örnekler alınarak koliform grubu mikroorganizma, *E.coli* ve *E.coli* O157:H7 açısından analizleri yapılmıştır.

Analiz edilen toplam 299 örnekten *E.coli* O157:H7 izole edilemezken, sığırlardan ve koyunlardan alınan toplam 198 karkas ve deri örneğinin 97'sinde (%48.98) koliform grubu mikroorganizma, 83'ünde (%41.91) *E.coli* tespit edilmiştir.

Sığır karkas ve deri örneklerinden izole edilen koliform grubu mikroorganizmaların ortalama sayıları but, karın, göğüs ve deri bölgelerinde sırasıyla 23.95 kob/cm², 18.95 kob/cm², 20.83 kob/cm², ve 46.18 kob/cm² düzeyinde; *E.coli*'nin ortalama sayıları ise sırasıyla 23.36 kob/cm², 17.56 kob/cm², 19.15 kob/cm², 45.11 kob/cm² düzeyinde bulunmuştur.

Sığır karkas örneklerindeki *E.coli* sayısının 5 (%2.52) örnekte tolere edilebilir sınırı aştığı belirlenmiştir.

Örneklenen sığırların deri ve karkaslarından izole edilen *E.coli* sayıları arasındaki korelasyon katsayısı ($r = 0.72$, $n = 42$) istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P = 0.05$).

Koyun karkaslarının but, karın ve göğüs bölgelerinden alınan örneklerde tespit edilen koliform grubu mikroorganizma sayıları ortalama olarak sırasıyla 5.22 kob/cm², 1.02 kob/cm², 2.07 kob/cm² düzeyinde; ortalama *E.coli* sayıları ise sırasıyla 4.7 kob/cm², 1.02 kob/cm², 1.83 kob/cm² düzeyinde bulunmuştur.

Ayrıca incelen işçi elleri, elbiseleri, kullanılan bıçak, balta ve sulardan oluşan toplam 49 çevresel örneğin 23'ünden (%46.93) koliform grubu mikroorganizma, 14'ünden (%28.57) ise *E.coli* izole edilmiştir.

Çalışmada, özellikle karkaslardan alınan örneklerde tespit edilen yoğun koliform grubu mikroorganizma ve *E.coli* yükü, işçi elleri, elbiseleri ve bıçaklardan *E.coli* izole edilmesi, mezbaha hijyeninde yetersizlik olduğuna işaret etmektedir. Dolayısıyla buradan elde edilen et ve et ürünlerinin insan sağlığı için risk oluşturabileceği düşünülmüş, mezbahalarda hijyen düzeylerinin artırılmasını sağlayacak tedbirlerin alınmasında HACCP prensiplerinin benimsenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

8. SUMMARY

INVESTIGATIONS OF PRESENCE OF THE COLIFORMS, *ESHERICHIA COLI* AND *ESCHERICHIA COLI O157:H7* IN THE SAMPLES AT THE CRITICAL CONTROL POINTS OF ABATTOIRS IN ÇANAKKALE

It is well known that microorganisms deteriorate food products and cause health problems for consumers when necessary precautions are not undertaken during slaughtering and processing of the meat and meat products which possess high nutritious value. The presence of coliform group of microorganisms and *E.coli* were investigated to monitor fecal contamination and to determine the hygienic quality of abattoirs, slaughtering units, personnel and instruments and equipments used during the processes. It has been known that cattle is a primary reservoir of *E.coli O157:H7* which cause worldwide serious outbreaks and even death cases. *E.coli O157:H7* can contaminate the carcasses from feces during the process of slaughtering which then can be carried to the animal products prepared from these carcasses. Therefore, besides coliform group of microorganisms and *E.coli* counts which are considered to be indicator organisms of abattoirs hygiene, the presence of *E.coli O157:H7* was investigated during the course of this study.

In this study, samples from randomly chosen animals, total of 42 cattles and 10 sheep, were obtained during and after the slaughtering process in 3 different abattoirs which are Merkez, Ezine and Biga, in Çanakkale. To investigate the precense of coliform group of microorganisms and *E.coli*, samples were taken from carcass (rump, flank and brisket) and hides of cattles and sheep. In addition, samples from the critical points of the environmental contamination such as workers' hands, cloths, knives, hatchets and waters were collected and the presence of coliform group of microorganisms, *E.coli* and *E.coli O157:H7* were analysed in the samples.

E.coli O157:H7 was not found in the total 299 samples. However coliform group of microorganisms in 97 (%48.98), and *E.coli* in 83 (%41.91) of total 198 carcass and hide samples were isolated from cattles and sheep.

The average counts of coliform group of microorganisms for cattle carcasses and hides were 23.95 cfu/cm², 18.95 cfu/cm², 20.83 cfu/cm² and 46.18 cfu/cm² in the areas rump, brisket, flank and hide respectively. The average counts for *E.coli* were 23.36 cfu/cm², 17.56 cfu/cm², 19.15 cfu/cm² and 45.11 cfu/cm² for the areas mentioned respectively in the former sentence.

E.coli counts of cattle carcass in 5 (%2.52) samples were determined to exceed the tolerable limit. There were significant (P = 0.05) correlations between *E.coli* counts of carcasses and hides.

The average counts of coliform group of microorganisms for sheep carcasses were 5.22 cfu/cm², 1.02 cfu/cm², 2.07 cfu/cm², in the areas rump, brisket and flank respectively. The average counts for *E.coli* were 4.7 cfu/cm², 1.02 cfu/cm², 1.83 cfu/cm² in the areas mentioned in the former sentence.

Coliform group of microorganisms in 23 (%46.93) samples and *E.coli* in 14 (%28.57) samples were isolated from total of 49 samples obtained from working environment specifically from hands, cloths, knives, hatchets of workers and from water used in the working area.

In conclusion, the load of coliform group of microorganisms and *E.coli* in the samples obtained from carcasses and workers' hands, cloths and knives, and presence of *E.coli* in proved the lack of hygienic conditions. The meat and meat products obtained from these areas may pose a risk for human health. Therefore, principles of HACCP needs to be followed to improve the hygienic conditions of the abattoirs.

9. KAYNAKLAR

- Ahmed, N.M., Conner, D.E., Huffman, D.L., 1995. Heat Resistance of Escherichia coli O157:H7 in Meat and Poultry as Affected by Product Composition. Journal of Food Science. 60(3):606-610.
- Altuğ, Ö., Ergün., A., Denizli, N., Gökçen, S., Erturun, H., 1995. Ege Üniversitesi Mezbahalarında Tehlike Analizi Kritik Kontrol Noktası (TAKKN) Uygulamasında Mikrobiyolojik Kontrol. Bornova Vet. Kont. Ve Arařt. Enst. Md. Derg. 19 (33) :35-72.
- Anar, ř., 2000. Et-Süt ve Ürünlerinin Güvenilirlik Açısından Deđerlendirilmesi ve HACCP Uygulamaları. Gıda, Ocak, 63-65, Dünya Yayıncılık.
- Bacteriological Analytical Manual (BAM), 1995. Chapter 4. Escherichia coli and the Coliform Bacteria. 8th Edition. Food and Drug Administration (FDA). Published and Distributed by AOAC International. USA. 27 p.
- Baumgart, J., 1993. Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Studienausgabe. B.Behrs's GmbH und Co., Averhoffstrasse 10, D-22085, Hamburg. (78-84 p), 513p.
- Besser, R.E., Lett, S.M., Weber, J.T., Doyle, M.P., Barrett, T.J., Wells, J.G., Griffin, P.M., 1993. An Autbreak of Diarrhea and Hemolytic Uremic Syndrome from Escherichia coli O157:H7 in Fresh-Pressed Apple Cidder. JAMA-Journal of the American Medical Association, 269(17):2217-2220.
- Besser, T. E., Hancock, D. D., Prichett, L. C., McRae, E. M., Rice, D. H., Tarr, P. I., 1997. Duration of Detection of Fecal Excretion of Escherichia coli O157:H7 in Cattle. Journal of Infectious Diseases, 175 (3): 726-729.

- Biss, M.E., Hathaway, S.C., 1996. Effect of Pre-slaughter Washing of Lambs on the Microbiological and Visible Contamination of the Carcasses. *Veterinary Record*, 138(4): 82-86.
- Bolton, D.J., Byrne, C., Sheridan, J., Riordon, D., 1999. *Escherichia coli* O157:H7: Implications for HACCP on the Farm and in the Abattoir. Report, ISBN 1-84170-001-2, 12pp.
- Bonardi, S., Maggi, E., Pizzin, G., Morabito, S., Caprioli, A., 2001. Faecal Carriage of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* O157 and Carcass Contamination in Cattle at Slaughter in Northern Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 66, 47-53.
- Borcaklı, M., Kalafatoğlu, H., Aran, N., Topal, T., Karakuş, M., 1994. Gıdalarda Temel Mikrobiyolojik Analiz Yöntemleri. Marmara Araştırma Merkezi Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü. Yayın No. 128. 53 s.
- Borczyk, A.A., Lior, H., Ciebin, B., 1987. False Positive Identifications of *Escherichia coli* O157 in Foods. *International Journal of Food Microbiology*, 4(4):347-349.
- Brackett, R. E., Hao, Y. Y., Doyle, M. P., 1994. Ineffectiveness of Hot Acid Sprays to Decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 on Beef. *Journal of Food Protection*, 57 (3): 198-203.
- Brown, C. A., Harmon, B. G., Zhao, T., Doyle, M. P., 1997. Experimental *Escherichia coli* O157:H7 Carriage in Calves. *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (1): 27-32.
- Buchanan, R. L., Doyle, M.P., 1997. Foodborne Disease Significance of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technology*, 51 (10): 69-76.

- Byrne, C.M., Bolton, D. J., Sheridan, J.J., McDowell, D.A., Blair, I.S., 2000. The Effects of Preslaughter Washing on the Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 Transfer from Cattle Hides to Carcasses during Slaughter. *Letters in Applied Microbiology*, 30: 142-145.
- Calicchia, M.L., Parker, E.L., Gambrel-Lenarz, S., Matner, R.R., 1997. Use of the Petrifilm Test Kit-HEC Direct Blot Enzyme Immunoassay Method without Swab Pre-Enrichment to Screen for Levels of *Escherichia coli* O157:H7 on Beef Carcasses by Surface Swabbing. *Journal of Food Protection*, 60(7):870-873.
- Castro-Rosas, J., Escartin, E.F., 2000. Survival and Growth of *Vibrio cholerae* O1, *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* O157:H7 in Alfalfa Sprouts. *Journal of Food Science*, 65(1):162-165.
- Cebiroğlu, H., 1998. Dondurulmuş Hamburger ve Köfte Numunelerinde Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 Suşunun Mevcudiyeti Üzerine Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul, (Yüksek Lisans Tezi).
- Chapman, P. A., Siddons, C. A., Wright, D. J., Norman, P., Fox, J., Crick, E., 1993. Cattle as Possible Source of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* O157 Infections in Man. *Epidemiology and Infection*, 111 (3): 439-447.
- Chapman, P.A., Siddons, C.A., Cerdan Malo, A.T., Harkin, M.A., 1997. A 1-Year Study of *Escherichia coli* O157 in Cattle, Sheep, Pigs and Poultry. *Epidemiology and Infection*. 119 (2): 245-250.
- Chapman, P.A., Cerdon Malo, A.T., Ellin, M., Ashton, R., Harkin, M.A., 2001. *Escherichia coli* O157 in Cattle and Sheep at Slaughter on Beef and Lamb Carcasses and in Raw Beef and Lamb Products in South Yorkshire, UK. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 139-150.

- Clavero, M.R.S., Monk, J.D., Beuchat, L.R., Doyle, M.P., Brackett, R.E., 1994. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonellae* and *Campylobacter jejuni* in Raw Ground Beef by Gamma-Irradiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(6):2069-2075.
- Conedera, G., Chapman, P.A., Marangon, S., Tisato, E., Dalvit, P., Zuin, A., 2001. A Field Survey of *Escherichia coli* O157 Ecology on a Cattle Farm in Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 66, 85-93.
- Conner, D. E., Kotrola, J. S., 1995. Growth and Survival of *Escherichia coli* O157:H7 under Acidic Conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (1):382-385.
- Coşansu, S., Ayhan, K., 2000. Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 ve Fermente Et Ürünlerindeki Önemi. *Gıda*, 25 (1) : 33-38.
- Cumbul, D., 1994. Ülkemiz Koşullarında Mezbaha ve Kombinalardaki Hijyenik Durumun Araştırılması. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Bursa (Doktora Tezi).
- Cutter, C. N., Siragusa, G. R., 1994. Efficacy of Organic Acids Againsts *Escherichia coli* O157:H7 Attached to Beef Carcass Tissue Using a Pilot Scale Model Carcass Washer. *Journal of Food Protection*, 57 (2): 97-103.
- Çakır, İ., 1999. Koliform Grup Bakteriler ve *E.coli* 215-222. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, Ankara, 295s.
- Dargatz, D.A., Wells, S.J., Thomas, L.A., Hancock, D.D., Garber, L.P., 1997. Factors Associated with the Presence of *Escherichia coli* O157 in Feces of Feedlot Cattle. *Journal of Food Protection*, 60(5):466-470.

- Dean-Nystrom, E.A., Bosworth, B.T., Moon, H.W., 1997. Pathogenesis of O157:H7 Escherichia coli Infection in Neonatal Calves. Mechanisms in the Pathogenesis of Enteric Diseases, Plenum Press, New York.
- Delazari, I., Iaria, S. T., Riemann, H. P., Cliver, D. O., Mori, T., 1998. Decontaminating Beef for Escherichia coli O157:H7. Journal of Food Protection, 61 (5) : 547-550.
- Dickson, J.S., Anderson, M.E., 1992. Microbiological Decontamination of Food Animal Carcasses by Washing and Sanitizing Systems: A Review. Journal of Food Protection. Vol.55, No.2, p.133-140.
- Doherty, A. M., McEvoy, J. M., Sheridan, J. J., McGuire, L., O'Sullivan, M., 1999. Development of HACCP Analysis System for Beef Slaughter. Nat. Food Cent., Dunsinea, Castleknock, Dublin 15, Republic of Ireland, ISBN 1-84170-000-2, 16pp.
- Doyle, M. P., 1984. Hemorrhagic Escherichia coli. Journal of Food Protection, 47: 824.
- Doyle, M.P., Schoeni, J.L., 1987. Isolation of Escherichia coli O157:H7 from Retail Fresh Meats and Poultry. Applied and Environmental Microbiology, 53(10): 2394-2396.
- Doyle, M. P., 1991. Escherichia coli O157:H7 and its Significance in Foods. International Journal of Food Microbiology, 12: 289-301.
- Eisel, W.G., Linton, R.H., Muriana, P.M., 1997. A Survey of Microbiological Levels for Incoming Raw Beef, Environmental Sources and Ground Beef an a Red Meat Processing Plant. Food Microbiology, 14, 273-282.
- Elder, R. O., Keen, J. E., Siragusa, G. R., Barkocy-Gallagher, G. A., Koohmaraie, M., 2000. Correlation of Enterohemorrhagic Escherichia coli O157 Prevalance in

Feces, Hides and Carcasses of Beef Cattle during Processing. PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America), 97 (7): 2999-3003.

Fenlon, D.R., Ogden, I.D., Vinten, A., Svoboda, I., 2000. The Fate of Escherichia coli and E.coli O157 in Cattle Slurry After Application to Land. Journal of Applied Microbiology, 88, 149-156 suppl.

Food Safety and Inspection Service U.S. Department of Agriculture (USDA-FSIS), 1996. Guidelines for Escherichia coli Testing for Process Control Verification in Cattle and Swine Slaughter Establishments.. Rules and Regulations. Federal Register /Vol. 61, No. 144 / Thursday, July 25. 38929- 38938. www.fsis.usda.gov/OA/fr/rule3.pdf

Food Safety Authority of Ireland, 1999. The Abattoir and Primary Processor. Chapter 4. www.fsai.ie/E.%20coli_site/chap4.html-12k

Gallien, P., Richter, H., Klie, H., Timm, M., Karch, H., Lehmann, S., Perlberg, K.W., Teufel, P., Protz, D., 1998. Detection of Shigatoxin Producing Escherichia coli (STEC) in Foods and Characterization of Isolates. Bundesgesundheitsblatt, 41 (10 Oct. Sonderheft) 26-30.

Gansheroff, L.J., O'Brien, A. D., 2000. Escherichia coli O157:H7 in Beef Cattle Presented for Slaughter in the U.S.: Higher Prevalance Rates than Previously Estimated. PNAS, 97 (7) : 2959-2961.

Garren, D.M., Harrison, M.A., Russell, S.M., 1997. Retention of Acid Tolerance and Acid Shock Responses of Escherichia coli O157:H7 and non-O157:H7 Isolates. Journal of Food Protection, 60(12):1478-1482.

- Gill, C.O., Badoni, M., Jones, T., 1996. Hygienic Effects of Trimming and Washing Operations in a Beef-Carcass-Dressing Process. *Journal of Food Protection*, 59(6): 666-669.
- Gill, C.O., McGinnis, J.C., 2000. Contamination of Beef Trimmings with *Escherichia coli* during a Carcass Breaking Process. *Food Research International*, 33, 125-130.
- Gill, C.O., Jones, T., 2000. Microbiological Sampling of Carcasses by Excision or Swabbing. *Journal of Food Protection*, 63(2):167-173.
- Gill, C. O., McGinnis, J. C., Bryant, J., 2001. Contamination of Beef Chucks with *Escherichia coli* during Carcass Breaking. *Journal of Food Protection*, 64 (11): 1824-1827.
- Glass, K.A., Loeffelholz, J.M., Ford, J.P., Doyle, M.P., 1992. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as Affected by PH or Sodium Chloride and in Fermented Dry Sausage. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8):2513-2516.
- Gönül, Ş.A., Karapınar, M., 1994. *Escherichia coli*: Patojenitesi ve Gıdalardaki Önemi. *Journal of Biology*, Tübitak, 18, 47-60.
- Gün, H., Yılmaz, A., Turker, S., Tanlası, A., Yılmaz, H., 2001. Preliminary Studies on the Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Abattoir Samples in Turkey. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 52(2): 31-33.
- Güneş, T., Arıkan, R., 1988. Tarım Ekonomisi İstatistiği. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1049, Ders Kitabı:305, 203-209, Ankara.
- Halkman, A. K., Noveir, M. R., Doğan, H. B., 2001. *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Müh. Bölümü. Ankara. 46 s.

- Hancock, D. D., Rice, D. H., Thomas, L. A., Dargatz, D. A., Besser, T. E., 1997. Epidemiology of Escherichia coli O157 in Feedlot Cattle. *Journal of Food Protection*, 60 (5) : 462-465.
- Hao, Y. Y., Brackett, R. E., 1993. Growth of Escherichia coli O157:H7 in Modified Atmosphere. *Journal of Food Protection*, 56 (4): 330-332.
- Hara-Kudo, Y., Onoue, Y., Konuma, H., Nakagawa, H., Kumagai, S., 1999. Comparison of Enrichment Procedures for Isolation of Escherichia coli O157:H7 from Ground Beef and Radish Sprouts. *Int Journal of Food Microbiology*, 50(3):211-214.
- Heckoetter, S., Buelte, M., Luecker, E., 1997. Detection of Escherichia coli Serogroup O157 in Foods by Immunomagnetic Separation (IMS). *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 48(4):85-87.
- Heuvelink, A.E., Roessink, G.L., Bosboom, K., De Boer, E., 2001. Zero-Tolerance for Fecal Contamination of Carcasses as a Tool in the Control of O157 VTEC Infections. *Int.Journal of Food Microbiology*, 66, 13-20.
- İnal, T., 1995. Kesim Hayvanı ve Et Muayenesi. 617s.
- Incze, K., 1998. Dry Fermented Sausages. *Meat Science*, 49 (Suppl.1):169-177.
- Jericho, K.W.F., Kozub, G.C., Bradley, J.A., Gannon, V.P.J., Golsteyn-Thomas, E.J., Gierus, M., Nishiyama, B.J., King, R.K., Tanaka, E.E., D'Sonuz, S., Dixon-MacDougall, J.M., 1996. Microbiological Verification of Control of the Processes of Dressing, Cooling and Processing of Beef Carcasses at A High Line-Speed Abattoir. *Food Microbiology*, 13, 291-301.
- Jericho, K.W.F., Kozup, G.C., Gannon, V.P.J., Thomas, E.J.G., King, R.K., Bigham, R.L., Tanaka, E.E., Dixon-MacDougall, J.M., Nishiyama, B.J., Kirbyson, H.,

- Bradley, J.A., 1997. Verification of the Level of Microbiological Control for the Slaughter and Cooling Processes of Beef Carcass Production at High-Line-Speed-Abattoir. *Journal of Food Protection*. 60(12):1509-1514.
- Jones, D.L., 1999. Potential Health Risks Associated with the Persistence of *Escherichia coli* O157 in Agricultural Environments. *Soil Use and Management*, 15(2): 76-83.
- Jonsson, M.E., Aspan, A., Eriksson, E., Vagsholm, I., 2001. Persistence of Verocytotoxin Producing *Escherichia coli* O157:H7 in Calves Kept on Pasture and in Calves Kept Indoors during the Summer Months in a Swedish Dairy Herd. *Int. Journal of Food Microbiology*, 66, 55-61.
- Karch, H., Bielaszewska, M., Bitzan, M., Schmidt, H., 1999. Epidemiology and Diagnosis of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 34 (3) :229-243.
- Karr, K.J., Boyle, E.A.E., Kastner, C.L., Marsden, J.L., Phebus, R.K., Prasai, R.K., Pruet, W.P., Garcia-Zepeda, C.M., 1996. Standardized Microbiological Sampling and Testing Procedures for the Beef Industry. *Journal of Food Protection*, 59(7):778-780.
- Kudva, I.T., Hatfield, P.G., Houde, C.J., 1997. Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin Producing *E.coli* serotypes Isolated from Sheep. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(4):892-899.
- Leyer, G.J., Wang, L.L., Johnson, E.A., 1995. Acid Adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 Increases Survival in Acidic Foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(10):3752-3755.
- Line, J.E., Fain, A.R., Moran, A.B., Martin, L.M., Lechowich, R.V., Carosella, J.M., Brown, W.L., 1991. Lethality of Heat to *Escherichia coli* O157:H7 D-Value

- and Z-Value Determinations in Ground Beef. *Journal of Food Protection*. 54(10):762-766.
- Miller, L.G., Kaspar, C.W., 1994. *Escherichia coli* O157:H7 Acid Tolerance and Survival in Apple Cider. *Journal of Food Protection*, 57(6):460-464.
- Murano, E.A., Pierson, M.D., 1993. Effect of Heat-Shock and Incubation Atmosphere on Injury and Recovery of *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Protection*, 56(7):568-572.
- Noveir, M.R., Doğan, H.B., Halkman, A.K., 2000. A note on *Escherichia coli* O157:H7 Serotype in Turkish Meat Products. *Meat Science*, 56, 331-335.
- Nursoy, G., Akgün, S., 1997. Ankara'daki Askeri Birliklerin İhtiyacı İçin Alınan Sığır Etlerinin Mikrobiyolojik Kaliteleri Üzerinde Araştırmalar. *Gıda*, 22 (3):241-245.
- Okrend, A.J.G., Rose B.E., Bennet, B., 1990a. A Screening Method for the Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Ground Beef. *Journal of Food Protection*, 53(3):249-252.
- Okrend, A.J.G., Rose, B.E., Lattuada, C.P., 1990b. Use of 5-Bromo-4-Chloro-3-Indoxyl-Beta-D-Glucuronide in MacConcey Sorbitol Agar to Aid in the Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from Groun Beef. *Journal of Food Protection*, 55(11): 941-943.
- Okrend, A.J.G., Rose, B.E., Lattuada, C.P., 1992. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 Using O157 Specific Antibody Coated Magnetic Beads. *Journal of Food Protection*, 55 (3):214-217.
- Olsvic, O., Wasteson, Y., Lund, A., Hornes, E., 1991. Pathogenic *Escherichia coli* Found in Food. *International Journal of Food Microbiology*, 12: 103-114.

- Öz, F., Kaya, M., Aksu, İ., 2002. Sucuk Üretiminde Farklı Nitrit Dozlarının ve Starter Kültür Kullanımının Escherichia coli O157:H7'nin Gelişimi Üzerine Etkisi. Türk J.Vet.Anim.Sci., Tübitak, 26, 651-657.
- Özbaş, Z. Y., Aytac, S. A., 1995. Escherichia coli O157:H7: Epidemiyolojisi, Gıdalarla İlişkisi, Patojenitesi ve İzolasyon Yöntemleri. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 52 (1) : 47-53.
- Philips, C. A., 1999. The Epidemiology, Detection and Control of Escherichia coli O157. Journal of the Science of Food and Agriculture, 79: 1367-1381.
- Rajkowski, K.T., Marmer, B.S., 1995. Growth of Escherichia coli O157:H7 at Fluctuating Incubation Temperatures. Journal of Food Protection, 58(12):1307-1313.
- Rice, D. H., Ebel, E. D., Hancock, D. D., Besser, T. E., Herriot, D. E., Carpenter, L. V., 1997. Escherichia coli O157 in Cull Dairy Cows on Farm and at Slaughter. Journal of Food Protection, 60(11) : 1386-1367.
- Richards, M.S., Corkish, J.D., Sayers, A.R., McLaren, I.M., Evans, S.J., Wray, C., 1998. Studies of the Presence of Verocytotoxic Escherichia coli O157 in Bovine Faeces Submitted for Diagnostic Purposes in England and Wales and on Beef Carcasses in Abattoirs in the United Kingdom. Epidemiology and Infection, 120(2):187-192.
- Szabo, R.A., Todd, E.C.D., Jean, A., 1986. Method to Isolate Escherichia coli O157:H7 from Food. Journal of Food Protection, 49(10):768-772.
- Soyer, A., 2000. Et İşletmelerine HACCP Programının Yerleştirilmesi. Gıda, 25 (6):413-422.

- Timm, M., Klie, H., Richter, H., Gallien, P., Perlberg, K.W., Lehmann, S., Protz, D., 1998. A Procedure for the Detection of VTEC in Foods and Faeces. Bundesgesundheitsblatt, 41 (Oct. Sonderheft), 20-25.
- Tunail, N., 1999. Mikrobiyal Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar, 59-90. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara, 295s.
- Uğur, M., Nazlı, B., Bostan, K., 1996. Genel Besin Hijyeni Ders Notları. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını. No. 28, 226 s.
- Uğur, M., Nazlı, B., Bostan, K., 1997. Özel Besin Hijyeni Ders Notları. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı. No: 60, 150 s.
- Uğur, M., Nazlı, B., Bostan, K., Aksu, H., 1998. Et ve Et Ürünleri Teknolojisi Ders Notları. İ.Ü. Veteriner Fakültesi Yayını. No.99, 83 s.
- Vernozy-Rosand, C., Mazuy, C., Ray-Gueniot, S., Boutrand Loei, S., Meyrand, A., Richard, Y., 1998. Evaluation of the VIDAS Methodology for Detection of Escherichia coli O157 in Food Samples. Journal of Food Protection, 61(7):917-920.
- Vernozy-Rozand, C., Feng, P., Montet, M.P., Ray-Gueniot, S., Villard, L., Bavai, C., Meyrand, A., Mazuy, C., Atrache, V., 2000. Detection of Escherichia coli O157:H7 in Heifers' Fecal Samples Using an Automated Immunoconcentration System. Letters in Applied Microbiology, 30(3):217-222.
- Wallance, J.S., Jones, K., 1996. The Use of Selective and Differential Agars in the Isolation of Escherichia coli O157 from Dairy Herds. Journal of Applied Bacteriology, 81, 663-668.

Wells, J.G., Shipman, L.D., Greene, K.D., Sowers, E.G., Green, J.H., Cameron, D.N., Downes, F.P., Martin, M.L., Griffin, P.M., Ostroff, S.M., Potter, M.E., Tauxe, R.V., Wachsmuth, I.K., 1991. Isolation of *Escherichia coli* Serotype O157:H7 and Other Shiga-Like-Toxin-Producing *E. coli* from Dairy Cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(5):985-989.

Willshaw, G.A., Smith, H.R., Cheastey, T., O'Brien, S.J., 2001. Use of Strain Typing to Provide Evidence for Specific Interventions in the Transmission of VTEC O157 Infections. *Int.J.of Food Microbiology*, 66, 39-46.



TEŞEKKÜR

Bu tez çalıŐmasının gerçekleŐmesi sırasında göstermiŐ olduğu katkılarından ve yardımlarından dolayı, tez danıŐmanım Sayın Prof. Dr. Arsan BİLİŞLİ'ye; tezimin her aşamasında hem bilimsel hem de manevi desteğini esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Harun AKSU'ya;

Tezimin tüm örnekleme ve uygulama çalışmaları sırasında göstermiŐ oldukları büyük sabır ve yardımlardan dolayı baŐta Veteriner Hekim Metin OKUMUŐ olmak üzere Veteriner Hekim Habibe BAĐCI ve Su rnleri Mühendisi İbrahim Halil BAKIR'a;

Tezimin laboratuvar çalışmaları sırasında vermiŐ oldukları destekten dolayı Çanakkale İl Kontrol Laboratuvarı Müdürü Fahrettin DURMAZ'a;

Tezimin yazım aşamasında maddi ve manevi olarak destek olan hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Fatma ARIK ÇOLAKOĐLU ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Aliye SARMAŐIK'a, meslektaŐlarım ArŐ. Gör. Cengiz TOĐAY, ArŐ. Gör. Can AKTAŐ, ArŐ. Gör. Mine ÇARDAK, ArŐ. Gör. Özlem KOCAHAN ve ArŐ. Gör. ÇiĐdem UYSAL'a;

ÇalıŐmalarım sırasında göstermiŐ oldukları sonsuz manevi destekten dolayı aileme en içten teŐekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Sine ÖZMEN

Doğum Yeri ve Yılı: İstanbul-1977

Adres: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Bölümü, Terzioğlu Kampüsü 17100 ÇANAkkALE .

Eğitim Durumu

1983-1987 : Topkapılı Mehmet Bey İlkokulu

1987-1990 : Çapa Ortaokulu

1990-1993 : Pertevniyal Lisesi

1993-1998 : İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

Mesleki Deneyim

2000 - : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi
Gıda Mühendisliği Bölümü Araştırma Görevlisi

Çalışma ve İlgi Alanları

Et mikrobiyolojisi, Et teknolojisi, Gıda Hijyeni ve Patojen Mikroorganizmalar.